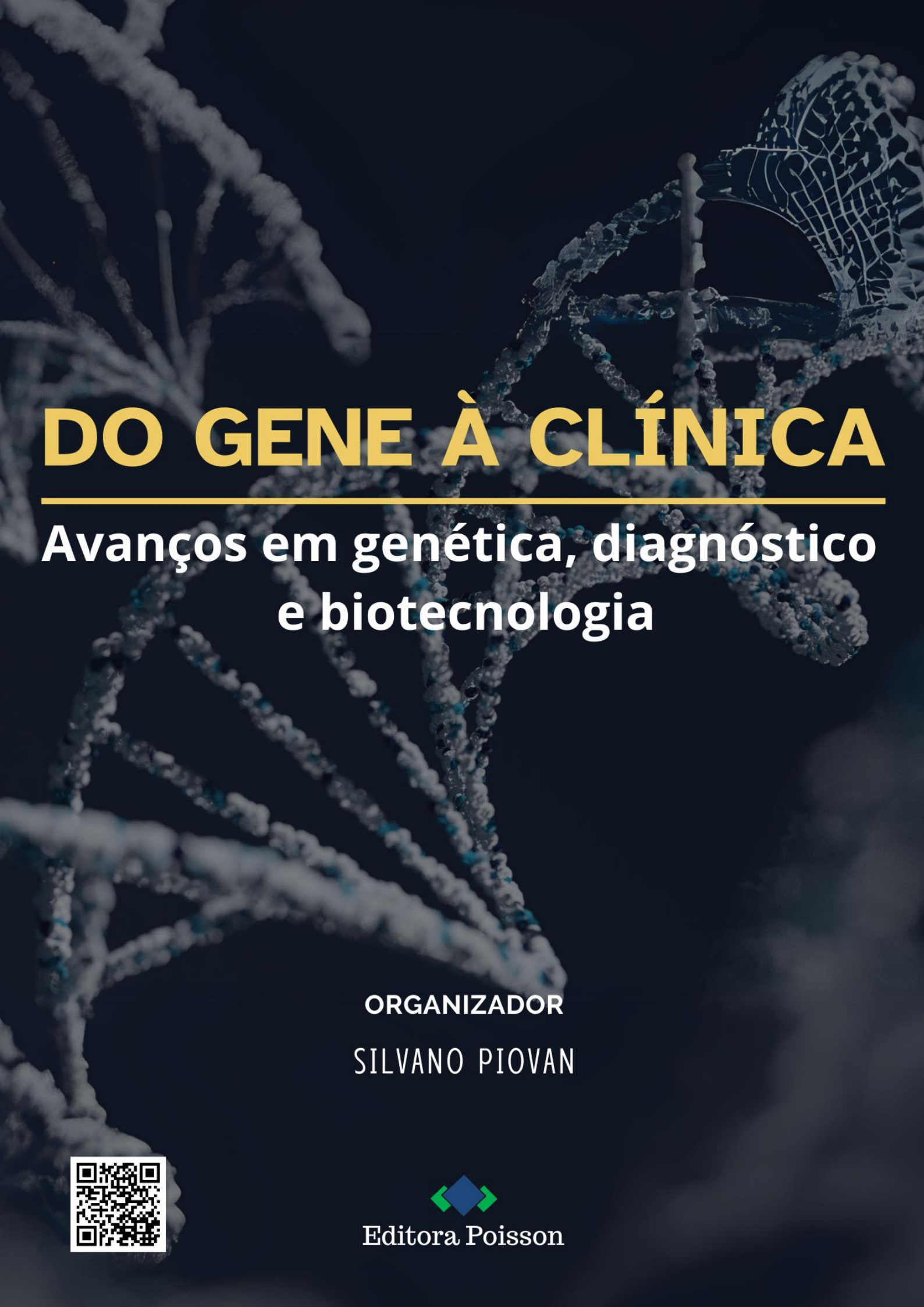


DO GENE À CLÍNICA

Avanços em genética, diagnóstico e biotecnologia

ORGANIZADOR

SILVANO PIOVAN

Editora Poisson

Silvano Piovan
(Organizador)

Do gene à clínica:
Avanços em genética, diagnóstico e biotecnologia

1ª Edição

Belo Horizonte

Editora Poisson

2024

Editor Chefe: Dr. Darly Fernando Andrade

Conselho Editorial

Dr. Antônio Artur de Souza – Universidade Federal de Minas Gerais
Ms. Davilson Eduardo Andrade
Dra. Elizângela de Jesus Oliveira – Universidade Federal do Amazonas
MSc. Fabiane dos Santos
Dr. José Eduardo Ferreira Lopes – Universidade Federal de Uberlândia
Dr. Otaviano Francisco Neves – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Dr. Luiz Cláudio de Lima – Universidade FUMEC
Dr. Nelson Ferreira Filho – Faculdades Kennedy
Ms. Valdiney Alves de Oliveira – Universidade Federal de Uberlândia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

G326

Do gene à clínica: avanços em genética, diagnóstico e biotecnologia/ Organização: Silvano Piovan - Belo Horizonte - MG: Poisson, 2024

Formato: PDF
ISBN: 978-65-5866-448-2
DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2

Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia

1. Genética 2. Biotecnologia. I. PIOVAN, Silvano II. Título

CDD-660.6

Sônia Márcia Soares de Moura – CRB 6/1896

O conteúdo deste livro está licenciado sob a Licença de Atribuição Creative Commons 4.0.
Com ela é permitido compartilhar o livro, devendo ser dado o devido crédito, não podendo ser utilizado para fins comerciais e nem ser alterado.

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

Esse e outros títulos podem ser baixados gratuitamente em www.poisson.com.br
Entre em contato pelo contato@poisson.com.br

Organizador

Silvano Piovan

Biólogo, Mestre em Ciências Fisiológicas e Doutor em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Molecular e Genética pela Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pós-doutor em Epigenética e Programação Metabólica. Com especialização em Perícia criminal e Genética Forense, é professor dos cursos da área da saúde do Centro Universitário Univel em Cascavel-PR. Atua em projetos nas áreas de Biologia Molecular, Genética, Reprodução Humana Assistida e Distúrbios Metabólicos.

Prefácio

O avanço da ciência biomédica é fundamental para responder aos grandes desafios da saúde e da sustentabilidade no século XXI. Neste livro, foi reunida uma coletânea de estudos que refletem o trabalho de graduandos do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, comprometidos em desvendar aspectos genéticos, diagnósticos e ambientais que impactam diretamente a vida e o bem-estar da população. Cada capítulo traz uma contribuição valiosa, explorando desde a genética do câncer e do autismo até questões de saúde pública e fontes sustentáveis de bioprodutos.

Abrimos este livro com uma análise profunda sobre as mutações no gene BRCA1 e suas variantes associadas ao câncer de mama, oferecendo um panorama detalhado do papel crucial da genética na detecção e prevenção de doenças complexas. Em seguida, investigamos os biomarcadores no melanoma cutâneo, com foco em genes, proteínas e antígenos, visando avanços no diagnóstico precoce e no tratamento personalizado. Exploramos também os fatores genéticos e epigenéticos que influenciam o desenvolvimento do Transtorno do Espectro Autista (TEA), um tema que tem desafiado cientistas e profissionais de saúde ao redor do mundo.

Para além das questões genéticas, este livro dedica capítulos importantes à análise de problemas de saúde pública, como a infertilidade sem causa aparente, a subnotificação de reações transfusionais em pacientes oncológicos e a soropositividade da Hepatite C. Estes estudos não apenas destacam lacunas de conhecimento, mas também incentivam o aprimoramento dos sistemas de saúde e diagnóstico.

A sustentabilidade e inovação na ciência biomédica também estão presentes, com capítulos que discutem o uso de escamas de tilápia como fonte de ácido hialurônico — uma abordagem sustentável e promissora para a indústria farmacêutica e cosmética —, e a importância da análise microbiológica para a segurança alimentar.

Espero que este livro inspire profissionais e estudantes a refletirem sobre o papel crucial da pesquisa biomédica no desenvolvimento de soluções para problemas de saúde e sustentabilidade. Acredito que os temas discutidos aqui promoverão o diálogo, ampliarão o conhecimento e impulsionarão novas investigações nas áreas da genética, saúde pública e biotecnologia. Em cada página, a meta é aproximar a ciência dos desafios contemporâneos, contribuindo para um futuro mais saudável e sustentável.

Prof. Dr. Silvano Piovan

Agradecimentos

Agradeço imensamente a todos que contribuíram para a realização deste livro. Em especial, à coordenadora do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Professora Lorena Barboza, cuja visão e apoio foram fundamentais para a concretização deste projeto. Aos autores, graduandos do curso de Biomedicina, pela dedicação e excelência em suas pesquisas. Cada capítulo desta obra é um passo importante para compreendermos melhor as complexidades da vida e para desenvolvermos novas ferramentas para a promoção da saúde e do bem-estar. Que este livro seja um ponto de partida para novas descobertas e soluções para os desafios da saúde e sustentabilidade.

Prof. Dr. Silvano Piovan

Autores

Adrieli Franceschetto

e-mail: adriihfranceschetto@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Ana Olívia Stocker

e-mail: oliviastocker93@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Eduarda Zanin Lasta

e-mail: eduarda21lasta@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Karina Biavatti Zavarezzi

e-mail: biavatti22@gmail.com

Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Privada do Leste, Boa Vista da Aparecida-PR, Brasil.

Leticia Possamai

e-mail: leticiapossamai123@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Lincon Berlanda Vieira

e-mail: lincon.berlanda@outlook.com

Acadêmico do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Lucas Guilherme Stringari

e-mail: luccassstringari@gmail.com

Acadêmico do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Luisa Mioto

e-mail: luisamioto@hotmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Maria Eduarda Pego Alberton

e-mail: maria.cebrac0903@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Marina Biavatti Zavarezzi

e-mail: marinabiavatti@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Pyetra Mariah Madureira Filus

e-mail: pyetra100mariah@gmail.com

Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário Univel, Cascavel-PR, Brasil.

Silvano Piovan

e-mail: silvano.piovan@univel.br

Biólogo, Mestre em Ciências Fisiológicas e Doutor em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Molecular e Genética pela Universidade Estadual de Maringá - UEM. Pós-doutor em Epigenética e Programação Metabólica. Com especialização em Perícia criminal e Genética Forense, é professor dos cursos da área da saúde do Centro Universitário Univel em Cascavel-PR. Atua em projetos nas áreas de Biologia Molecular, Genética, Reprodução Humana Assistida e Distúrbios Metabólicos.

SUMÁRIO

Capítulo 1: Análise de mutações no gene BRCA1 e suas variantes associadas ao câncer de mama..... 09

Pyetra Mariah Madureira Filus, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.01

Capítulo 2: O papel de genes, proteínas e antígenos na progressão e diagnóstico do melanoma cutâneo: uma revisão sistemática sobre biomarcadores 34

Lucas Guilherme Stringari, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.02

Capítulo 3: Os fatores genéticos e epignéticos envolvidos no desenvolvimento do Transtorno do Espectro Autista: uma revisão sistemática 45

Marina Biavatti Zavarezzi, Karina Biavatti Zavarezzi, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.03

Capítulo 4: Infertilidade sem causa aparente: uma revisão sistemática..... 54

Maria Eduarda Pego Alberton, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.04

Capítulo 5: Análise da soropositividade da hepatite C na cidade de Cascavel e região 66

Lincon Berlanda Vieira, Luisa Mioto, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.05

Capítulo 6: Análise de reações transfusionais em pacientes oncológicos: subnotificação, sintomas e desafios da hemovigilância..... 75

Adrieli Franceschetto, Ana Olívia Stocker, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.06

Capítulo 7: Escamas da tilápia: uma fonte sustentável de ácido hialurônico..... 83

Leticia Possamai, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.07

Capítulo 8: A importância da análise microbiológica em polpas de laranjas comercializadas em municípios..... 90

Eduarda Zanin Lasta, Silvano Piovan

DOI: 10.36229/978-65-5866-448-2.CAP.08

Capítulo 1

Análise de mutações no gene BRCA1 e suas variantes associadas ao câncer de mama

Pyetra Mariah Madureira Filus
Silvano Piovan

Resumo: O câncer de mama apresenta elevados índices de prevalência, mortalidade e morbidade e é considerado o tipo de câncer que mais acomete mulheres no Brasil e do mundo, depois do câncer de pele não melanoma. O câncer de mama hereditário representa de 5% até 10% dos casos e está relacionado a mutações em genes como o *BRCA1* e *BRCA2*, enquanto aproximadamente 90% tem definidos sua origem esporádica no qual estão associados a mecanismos que controlam expressão gênica. As mutações geram variantes que podem ser malignas e quando atingem um gene responsável pelo reparo do DNA comprometem a supressão do tumor contribuindo para a carcinogênese. O uso do painel multigênico em testes genéticos, bem como a detecção das variantes em determinada população possibilitam a prevenção e o tratamento precoce reprimindo o agravo da doença, além de contribuir para fonte de dados genéticos. No presente estudo será realizado um levantamento de dados do banco de dados genômicos: ClinVar e Ensembl, com o objetivo de identificar e analisar variantes no gene *BRCA1.*

Palavras-chave: Carcinogênese, mutações gênicas, hereditariedade.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é considerado uma das doenças que mais causa mortes no mundo, as células cancerosas apresentam um crescimento desordenado (Adami *et al*. 2001; World Cancer Research Fund – WCRF, 2007) por consequência do acúmulo de alterações genéticas no DNA das células saudáveis (Jordel, 2000). A carcinogênese compreende diversas fases podendo envolver inúmeros genes, por intermédio de mutações e amplificações gênicas, mecanismos epigenéticos e instabilidade genômica (Peón, 2000).

O câncer de mama é muito comum e é responsável por um elevado número de óbitos por neoplasias em mulheres no mundo todo (Apostolou e Fostira, 2013). A doença pode ter origem hereditária (através da linhagem germinativa) ou ser adquirida, aproximadamente 5 a 10% dos casos são hereditários e 90% dos cânceres são causados por fatores ambientais onde a célula afetada é a somática (Alvarenga *et al*., 2003; Thompson e Thompson, 2008; Borges-Osório e Robinson, 2013).

Os genes *BRCA1* e *BRCA2* são os mais afetados no câncer de mama, ambos estão envolvidos no reparo das fitas de DNA, por recombinação homóloga, dessa forma, contribuindo para homeostase genômica (D' andrea, 2007). Ao sofrerem mutação, perdem sua capacidade se suprir o tumor, fazendo com que a célula seja incapaz de reparar os danos no DNA, deixando-a a mercê de outros mecanismos menos eficientes, consequentemente contribuindo com a instabilidade celular promovendo o desenvolvimento do câncer, devido a não funcionalidade do gene (Turner, Tutt E Ashworth, 2004; Fasano e Muggia, 2009)

Pesquisas focadas no sequenciamento genômico e em testes genéticos possuem grande importância clínica por descobrirem inúmeras variantes do gene *BRCA1.* A identificação de variantes patogênicas bem como a detecção dos portadores das mesmas possibilita melhores ações de controle, tratamento e diagnóstico precoce visando prevenir o desenvolvimento da doença. Como resultado disso uma melhora significativa nas taxas de sobrevida dos pacientes, no entanto, nem todos são beneficiados por igual, pela falta de um conhecimento mais aprofundado a respeito do impacto funcional das variantes de *BRCA1* (Millot *et al*., 2012; Paluch-Shimon *et al*., 2016).

Desta forma, esse trabalho tem por objetivo investigar alterações moleculares das variantes de *BRCA1* que estão presentes no câncer de mama, por meio de um levantamento em bancos de dados genéticos onde serão identificadas as principais variantes desse gene.

2. METODOLOGIA

2.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional retrospectivo, baseado em dados de bancos genômicos públicos e/ou privados, com o objetivo de identificar e analisar variantes nos genes *BRCA1*.

2.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Critérios de inclusão: As variantes incluidas possuiam informações genômicas disponíveis nos bancos de dados, além de terem dados clínicos relevantes, como casos publicados de câncer de mama ou ovário.

Critérios de exclusão: Foram excluídas as variantes com dados genômicos incompletos ou de baixa qualidade, sem publicações de estudos clínicos ou com informações genéticas insuficientes para análise.

2.3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Foram acessados os bancos de dados genômicos selecionados: ClinVar (banco de dados mantido pelo National Center for Biotechnology Information - NCBI) e o Ensembl (projeto que fornece uma coleção de genomas de diferentes espécies).

Os dados foram extraídos de informações genômicas relacionadas ao gene *BRCA1*, e suas variantes. Os artigos usados para alimentar o banco de dados foram analisados e selecionados a partir dos dados clínicos associados, como histórico de câncer na família e hereditariedade.

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

A análise e classificação das variantes nos genes *BRCA1* se deu pela avaliação da patogenicidade destas por meio de ferramentas bioinformáticas disponíveis nos próprios bancos de dados. Desta forma, foi feito uma correlação das variantes encontradas com dados clínicos para determinação de relevância clínica.

A classificação das variantes foi realizada de acordo com as diretrizes internacionais do sistema da American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) em colaboração com a Association for Molecular Pathology (AMP). Esse sistema foi criado para padronizar a interpretação e a classificação de variantes genéticas identificadas em sequenciamentos genômicos, especialmente aquelas associadas a doenças genéticas.

A classificação ACMG/AMP considera várias linhas de evidência para determinar a significância clínica de uma variante. Essas evidências são agrupadas em diferentes critérios e categorias, e a interpretação final da variante é atribuída a uma das seguintes categorias:

Benigno (Benign): A variante não é considerada patogênica e não está associada a doença.

Provavelmente Benigno (Likely Benign): A variante é improvável de ser patogênica e tem baixa probabilidade de estar associada a doença.

Significado Incerto (Uncertain Significance): A evidência disponível não é suficiente para determinar se a variante é patogênica ou benigna.

Provavelmente Patogênico (Likely Pathogenic): A variante é provavelmente patogênica e tem alta probabilidade de estar associada a doença.

Patogênico (Pathogenic): A variante é considerada patogênica e está associada à doença.

Para classificar uma variante usando o sistema ACMG/AMP, são avaliados diversos critérios, incluindo: evidências de patogenicidade funcional, evidências de patogenicidade clínica, frequência da variante na população, padrões de segregação da variante em famílias, evidências de estudos funcionais, entre outros critérios relevantes à interpretação da variante.

3. RESULTADOS

3.1. CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama é visto como a neoplasia que mais causa medo nas mulheres, por causar impactos psicológicos negativos em relação à própria imagem (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2008). Além de possuir elevados índices de prevalência, mortalidade e morbidade (Gonzales-Ângulo, 2005) é responsável por uma incidência (2023-2025) de 41,89 casos por 100.000 mulheres no Brasil (INCA, 2022) e 25% de novos casos de câncer em mulheres no mundo inteiro (AMERICAN CANCER SOCIETY- ACS, 2018; Bray *et al*., 2018).

Em países desenvolvidos apresenta uma incidência de 75,2 a cada 100,000 mulheres que é superior a de países que estão em desenvolvimento com 32,8 a cada 100,000 mulheres, porém a taxa de mortalidade é maior em países menos desenvolvidos (17,1/100,000 mulheres), em relação a países desenvolvidos (13,1/100,000 mulheres) (Globocan, 2018)

O curso clínico e a sobrevida do câncer de mama são variados. Esta variação se da através de uma série de fatores complexos, como a velocidade do crescimento tumoral e o potencial de metástase do tumor, além de outros mecanismos que não são totalmente entendidos, mas que estão relacionados a condições hormonais, imunológicas e nutricionais do paciente (Souza *et al*., 2008). Em relação à taxa de sobrevida de 5 anos do câncer de mama, quando o tumor é diagnosticado em estágio local são 99%, em estágio regional são 86% e em estado metastático são 17% de chances (ACS, 2019).

Entende-se que a etiologia da doença é marcada por uma sequência de eventos multifatoriais, compreende-se que os fatores genéticos, ambientais e estilo de vida estão relacionados à sua origem. O aparecimento do câncer se dá muitas vezes pelo acúmulo de lesões genéticas geradas por repetitivas agressões locais no DNA, resultando na inativação de genes supressores tumorais ou na ativação de proto-oncogenes causando alterações no tecido normal (Vieira, *et al*., 2012)

No caso do câncer de mama de caráter hereditário, o qual confere de 5% a 10% dentro de todos os casos desta neoplasia, caracteriza-se pela presença de mutações germinativas em genes supressores de tumor como o *BRCA1*, *BRCA2* e o *TP53* (Vieira, *et al*., 2012), os quais são responsáveis pelo reparo de danos no material genético e evitam o aparecimento de neoplasias (Yoshida; Miki, 2004).

Quando a doença não está associada a fatores hereditários ela é classificada como esporádica, nesse caso, representando mais de 90% dos casos de câncer de mama no mundo (Gonzales-Ângulo, 2005; INCA, 2011). Dentre os fatores de risco, estão fortemente relacionados ao desenvolvimento do câncer de mama os que levam em consideração a vida reprodutiva da mulher e a produção de esteroides sexuais moduladas pela função ovariana, como a menarca precoce, menopausa tardia, o uso de anticoncepcionais orais, e as terapias de reposição hormonal, além da idade que é considerado um dos mais importantes (INCA, 2011).

Juntamente com os fatores hormonais, alguns estudos sugerem que a inatividade física e alterações na alimentação corroboram para o acréscimo da incidência de câncer de mama no mundo (INCA, 2011). Ademais, estudos internacionais visualizaram mudanças nas taxas na incidência de câncer em populações que migram para outros locais, o que constata que as neoplasias sofrem influência das condições ambientais e não apenas de mutações genéticas (WCRF; AICR, 2007; Adami, *et al*.,2001).

Os tumores de mama adquiridos, ou seja, os não mutacionais podem estar relacionados a mecanismos epigenéticos (Romagnolo, *et al*., 2016). Esses mecanismos controlam expressão gênica e podem ser herdados sem alterar a sequência do DNA (Devaux; herschkowitz, 2018). Alterações dos mecanismos epigenéticos, induzidas por estresse, podem causar mudanças significativas em um fenótipo sem alterar o genótipo (Romagnolo, *et al*., 2016).

Dentre os mecanismos epigenéticos existem a metilação do DNA, as modificações nas histonas, a remodelagem de cromatina e os RNA não codificantes (Romagnolo, *et al*., 2016). Alterações epigenéticas são diferentes das genéticas porque são mais frequentes e podem ser reversíveis (Cava; Bertoli; Castiglioni, 2015). Além das alterações causadas nesses mecanismos, a epigenética pode influenciar na carcinogênese, ativando genes envolvidos na proliferação, invasão, antiapoptose e metástase (Wu, 2019).

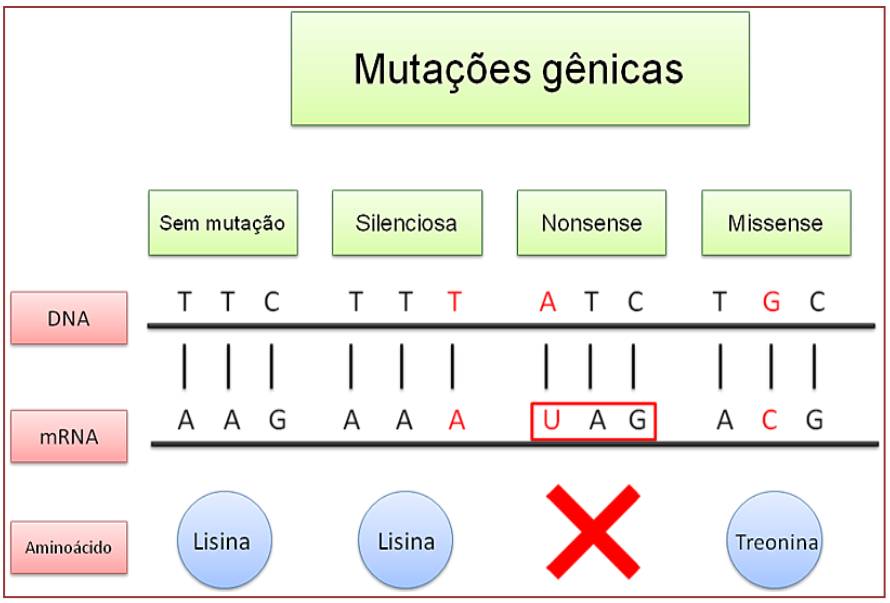
3.2. MUTAÇÕES GENÉTICAS

Uma mutação pode ser descrita como uma modificação no material genético de um organismo que pode resultar em mudanças fenotípicas. As mutações podem ser herdadas (quando atinge a linhagem germinativa) ou se originarem a partir de fatores ambientais de forma espontânea atingindo a linhagem somática das células. Além disso, podem ser classificadas de duas formas: cromossômica, quando afeta os cromossomos e ou gênica, quando atinge um ou mais genes (Klug, 2009).

Existem variados tipos de mutações gênicas e elas podem ser diferenciadas de acordo com a forma que o nucleotídeo é alterado. Em uma molécula do DNA, no gene, pode ocorrer a troca de uma base nitrogenada por outra, conhecida como mutação pontual. Quando essa mudança de nucleotídeo altera o códon (trinca) de uma região gênica e ocorre a alteração de um ou mais aminoácidos, esta mutação é nomeada como mutação *missense* (Figura 1), pois afeta o produto da codificação proteica final. Já quando esta alteração de nucleotídeo não muda o aminoácido formado ela é considerada silenciosa (Friedman *et al*., 1994; Durocher *et al*., 1996; Klug, 2009).

No caso de uma mutação *nonsense,* essa alteração do nucleotídeo pode resultar na formação de um códon de terminação precoce que induz a parada da tradução da proteína. Outro tipo de mutação são as mutações *frameshift*, que acontecem a partir de deleções ou inserções de um nucleotídeo, que acaba alterando a sequência de todos os próximos códons, podendo também gerar um códon de parada prematuro. Algumas mutações podem ocorrer também em sítios de splicing antes da tradução. As consequências de uma mutação se agravam de acordo com o local afetado da sequência codificadora (Klug, 2009).

Figura 1: Representação dos diferentes tipos de mutações gênicas e suas respectivas consequências.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Algumas mutações podem aparecer com mais frequência em certas famílias e em grupos étnicos específicos sustentando o efeito fundador (Kuska, 1997). Essas mutações são resultado de uma alteração no DNA que ocorreu há centenas de anos e permanecem isoladas não se misturando etnicamente, o que acaba tornando-a mais frequente em gerações futuras. (Thorlacius, 1996; Sarantaus, 2000; Vega, 2001).

Existem diversas mutações fundadoras descritas na literatura relacionadas aos genes *BRCA1* e *BRCA2* (Thorlacius, 1996; Sarantaus, 2000; Vega, 2001). As variantes de *BRCA1* 185delAG, 5382insC e de *BRCA2* 6174delT são exemplos das mutações fundadoras que mais afetam os judeus *Ashkenazi* de 2 a 2,5% (Friedman, 1995; Struewing, 1995 e1997; Neuhausen, 1996; Roa, 1996; Szabo e King, 1997; Ferla, 2007). Desse modo, mulheres que possuem essas variantes possuem maiores chances de se depararem com tumores malignos de mama e também mas com menos frequência o câncer de ovário (Ford, 1998; Johansson, 1999; Niell, 2004).

3.3. GENES

Os principais grupos de genes envolvidos na origem da doença são os genes supressores de tumor, os proto-oncogenes e os genes relacionados à reparação do DNA (Peón, 2000). Em relação ao câncer de mama causado por mutações genéticas os principais genes afetados são o BRCA1 e BRCA2 que são responsáveis pelo controle do ciclo celular, (Miki, *et al.*, 1994) quando mutados perdem a capacidade de proteger o DNA, resultando na falha da supressão tumoral favorecendo o aparecimento de um tumor (Cesar, *et al.*, 2012). Mulheres que apresentam mutações do BRCA1 e BRCA2 possuem 87% e 85% de chances de desenvolver câncer de mama, respectivamente (Alvarenga, *et al.*, 2003).

Além desses genes, foram encontrados outros genes que também sofrem mutação e predispõem o carcinoma mamário como o gene TP53 que causa a síndrome de Li-Fraumeni, mutação no gene PTEN na síndrome de Cowden, nos genes STK11 e LKB1 na síndrome de Peutz-Jeghers e nos genes MLH1 e MLH2 na síndrome de Muir-Torre (Devita Junior; Hellman; Rosenberg, 2001). Em um estudo realizado com 1663 brasileiros onde 99,2% eram mulheres com câncer de mama foram feitos testes de painel multigênico hereditário, e como resultado os genes mais mutados foram: BRCA1 (27,4%), BRCA2 (20,3%), TP53 (10,5%), MUTYH monoalélico (9,9%), ATM (8,8%), CHEK2 (6,2%) e PALB2 (5,1%) (Guindalin, *et al*., 2022).

Com o passar do tempo, a magnitude da hereditariedade genética do câncer de mama vai sendo entendida a partir do aprimoramento das técnicas de sequenciamento em larga escala, o NGS (*Next Generation Sequencing*), sendo assim, no que se refere a nível de penetrância dos genes de susceptibilidade a doença é possível classificar em grupos de alta, moderada e baixa penetrância, relacionando a constante apresentação de pessoas com mutações patogênicas associados ao fenótipo do câncer de mama (Foulkes, 2008; Maxwell *et al*., 2015). Confere o título de genes de alta penetrância o *BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN* e de penetrância moderada o *CHEK2, PALB2, ATM* (Pharoah *et al*., 1997; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer *et al*., 2001; Breast Cancer Association Consortium, 2021; Hu *et al*., 2021).

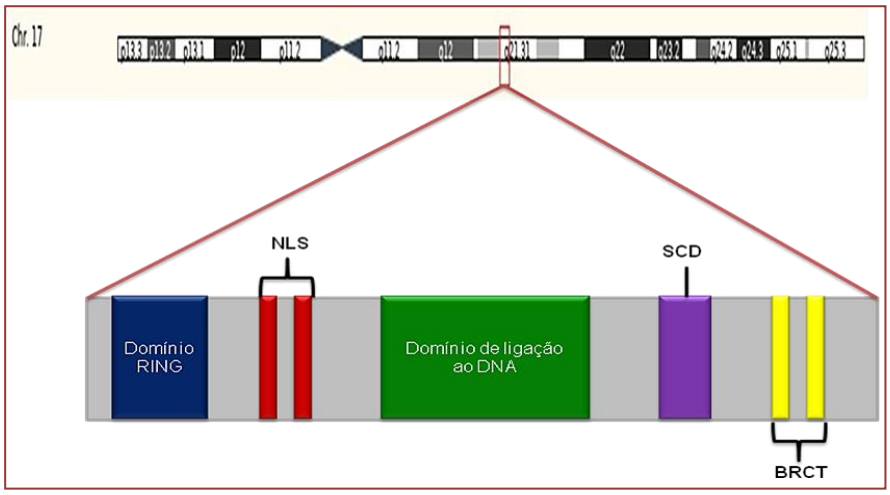
Há questionamentos em relação à penetrância das mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* devido diversidade do grupo de estudos (diferentes famílias e etnias) utilizados nas pesquisas (Antoniou, 2003; Chen 2007; Begg, 2008). A compreensão dessa variação nos níveis de penetrância não é totalmente entendida, no entanto, sabe-se que fatores reprodutivos, consequência molecular e outras alterações genéticas como SNPs (polimorfismo de nucleotídeo único) co-herdados, podem estar associados (Gayther, 1995 e 1997; Antoniou, 2010).

3.4. *BRCA1*

O *BRCA1* é um gene supressor tumoral que codifica uma proteína com 1863 aminoácidos, com a sua principal função dedicada ao reparo de danos no DNA por meio da recombinação homóloga. Esse gene, também interage com proteínas para participar de outros processos celulares como, regulação do controle do ciclo celular, remodelamento da cromatina, ubiquitinação de proteínas e silenciamento do cromossomo X (Wu, 1996; Buller, 1999; Xu, 1999; Bochar, 2000; Le Page, 2000; Wang, 2000; Hartman e Ford, 2002).

O *BRCA1* está localizado no cromossomo 17 na posição 21 (Figura 2) e possui 24 exons no total, sendo que, os exons 1 e 4 não são traduzidos, restando apenas 22 codificantes (Venkitaraman, 2014). Ele pode ser encontrado através de sinônimos como, *BRCC1, FANCS, PPP1R53, RNF53*. Além disso, esse gene possui 40 transcritos, resultado das variantes do splicing e está relacionado a 106 fenótipos (Ensembl).

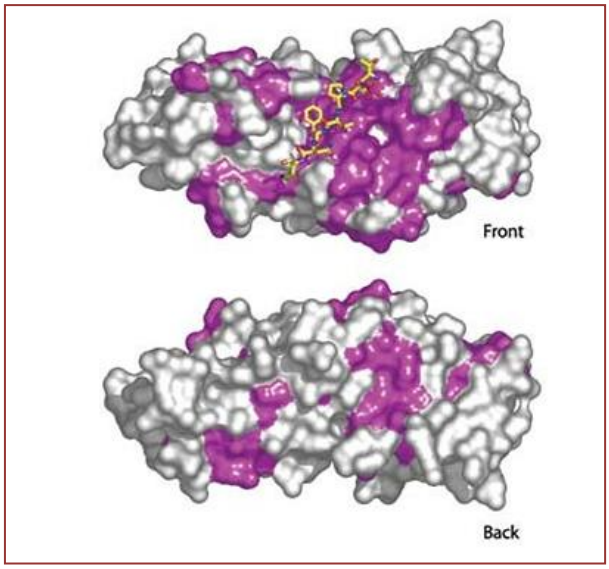
Figura 2: Localização do gene *BRCA1* no cromossomo 17 e representação de seus domínios funcionais.



Fonte: Adaptado de Ensembl.

A proteína codificada pelo *BRCA1* (Figura 3) é organizada em diferentes regiões e possui um domínio RING (*Really Interesting New Gene*) que interage com outras proteínas. Possui também, dois domínios no exon 11 NLS (sinal de localização nuclear) que são importantes na comunicação com as proteínas do controle celular, como por exemplo, a p53. Na porção central da proteína, encontra-se um domínio que possibilita a checagem do ciclo celular, um domínio de ligação ao DNA (DNA Binding Domain), uma região SCD (cluster de sequências de serinas e treonina) e, na porção C-terminal, dois domínios BRCT relacionados a sustentação da estabilidade dos processos de transcrição celular (Miki *et al*., 1994; Monteiro, 1996; Wu, 1996; Scully, 1997; Deng e Brodie, 2000; Wang, 2000; Venkitaraman, 2002; Yarden, 2002; Narod e Foulkes, 2004; Narod e Offit, 2005).

Figura 3: Representação da estrutura cristalina da proteína BRCA1.



Fonte: Adapdo de Clapperton, et al., 2004.

Através destes domínios, o *BRCA1* age formando complexos com as proteínas, dessa forma contribui com a ativação dos pontos de checagem do ciclo celular e na via de reparo de DNA, além de outras funções como transcrição e regulação (Venkitaraman, 2014). Sendo assim, mutações nesses domínios, podem aumentar as chances do aparecimento de câncer (Friedman *et al*., 1994; Couch; Weber, 1996; Caravalho *et al*., 2007; Clark *et al*., 2012).

Entende-se que devido a sua interação com diversas moléculas, o *BRCA1* atua como uma central de coordenação para a ligação de proteínas efetoras que visam manter o equilíbrio do ciclo celular e em casos de danos, induzir a célula a apoptose (Saha *et al*., 2010; Savage; Harkin, 2015; Shibata, 2017).

As mutações encontradas no gene *BRCA1* em linhagem germinativa podem aparecer em 45% e 80% das famílias com histórico de câncer de mama hereditário e câncer de mama e ovário hereditários respectivamente (Dapic; Caravalho; Monteiro, 2005; Stuckey; Onstad, 2015; Yamauchi; Takei, 2017).

Cerca de 70% das variantes observadas em *BRCA1* resultam em alelos que não concluem a codificação de proteínas, devido à falha na expressão gênica ou simplesmente pela síntese de uma proteína truncada. Essas mutações podem ocorrer em regiões regulatórias e em sítios de splicing, como também podem acontecer em formato de inserções, deleções e rearranjos (Van Der Groep; Van Der Wall; Van Diest, 2011; Kleibl; Kristensen, 2016).

Entende-se que todas as mutações que induzem o término precoce de BRCA1 fornecem maior risco de desenvolver câncer (Dapic; Monteiro, 2006; Linger; Kruk, 2010). Alguns estudos também demonstraram que junto à porção C-terminal, a ausência dos últimos 11 resíduos de aminoácidos, é o bastante para sua inativação (Monteiro; August; Hanafusa, 1996; Caravalho; Couch; Monteiro, 2007; Linger; Kruk, 2010).

4. DISCUSSÃO

Uma pesquisa feita com 214 famílias revelou que as variantes patogênicas de linhagem germinativa de *BRCA1* e *BRCA2* corresponderam de 80% a 90% das ocorrências em famílias de indivíduos com câncer de mama e ovário (Easton *et al*., 1993). A predominância de variantes nos genes é diferente em cada população (Nanda, *et al*., 2005). Até então, as variantes de BRCA na população brasileira são bastante heterogêneas, fator primordial que diferencia a prevalência de certas variantes em outras populações (Da Costa Silva e Carvalho *et al*., 2020; Miguel *et al*., 2018; Dutil *et al*., 2015; Rebbeck *et al*.,2018).

Com o passar do tempo e evolução da ciência foi-se descobrindo mais variantes de BRCA1/2 relacionadas a diversos tipos de câncer (Ford, Easton e Peto, 1995; Wooster *et al*., 1995). As variantes de BRCA comumente encontradas nas populações são 5382insC/5266dup e 185AG/68_69del. Grande parte dessas variantes patogênicas de BRCA1 geram uma mudança no quadro de leitura do mRNA ocasionando a perda da função (Evans *et al*., 2005). A prevalência das variantes malignas de BRCA1 e BRCA2 varia entre 1:400 e 1:500 de pessoas no geral (Comen *et al*., 2011).

O padrão criado pela *American College of Medical Genetics and Genomics e a Association for Molecular Pathology* (ACMG/AMP) tem como principal objetivo auxiliar na interpretação e classificação de variantes mutacionais (Richards *et al*., 2015). Esse

sistema de padronização além de facilitar a união dos dados e é utilizado para classificar variantes de BRCA pelo sistema *Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles* (ENIGMA) que classifica clinicamente variantes de BRCA (Lindor *et al*., 2012; Spurdle *et al*., 2012). Porém, existem mais de 31.000 variantes de BRCA1 sem classificação, esse fator dificulta as análises e interpretações das variantes conforme o aumento dos dados genéticos (Richards *et al*., 2015).

Tendo em vista a complexidade e importância da classificação e caracterização clínica das variantes do gene *BRCA*, foram selecionadas algumas variantes para uma análise mais aprofundada quanto à agressividade, consequência molecular e a forma em que estão distribuídas entre as diferentes populações, conforme a Tabela 1.

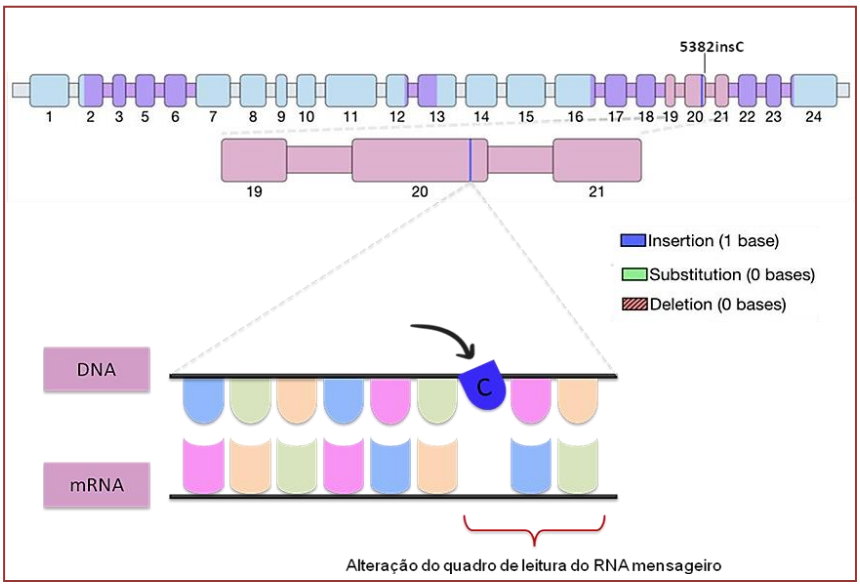
Tabela 1. Artigos que abordam as variantes *BRCA1* 5382insC.

Variante de *BRCA1* 5382insC	
Autor	Título
DE LOS RIOS et al., 2001	Founder mutations of BRCA1 and BRCA2 in North American families of Polish origin that are affected with breast cancer.
DUFLOTH et al., 2005	Análise de mutações nos genes BRCA1e BRCA2 em pacientes brasileiros com carcinoma de mama e história familar positiva.
GAYTHER et al., 1997	Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene.
GOMES et al., 2007	Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Brazil.
GORSKI et al., 2000	Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer.
PAIXÃO et al., 2022	Characterization of genetic predisposition to molecular subtypes of breast cancer in Brazilian patients.
SIMARD et al., 1994	Common origins of BRCA1 mutations in Canadian breast and ovarian cancer families.

Fonte: Próprios autores

Foi realizado um estudo com 30 famílias canadenses com câncer de mama (CM) e/ou Câncer de ovário (CO) para avaliar mutações da linhagem germinativa na região codificadora do gene *BRCA1*. Foi identificado a inserção de 1 pb (par de base) C na posição 5382 do exon 20, desse modo, resultando na alteração do quadro de leitura do mRNA (RNA mensageiro) gerando um códon de parada prematuro (marcando o fim da tradução) na posição 1829 do exon 24. A mutação 5382insC foi detectada em 4 famílias canadenses que possuíam 14 casos de câncer de mama e 5 casos de câncer de ovário (Simard, *et al*., 1994).

Figura 4: Localização da mutação de *BRCA1* 5382insC.



Fonte: Adaptado de BRCA Exchange.

Em 2022, Paixão e colaboradores publicaram um estudo com 321 mulheres com CM com a premissa de detectar mutações germinativas em genes que predispõe ao câncer em pacientes brasileiros com CM. Foram identificados 83 variantes patogênicas de linha germinativa em 81 pacientes, onde 39 pacientes apresentaram variantes em genes de CM de alto risco (*BRCA1, BRCA2, TP53 e PALB2*). 17 pacientes manifestaram variantes em BRCA1 sendo que 4 delas correspondiam a variante c.5266dup (rs80357906), também chamada de 5382insC e que é classificada como patogênica pelo Clinvar.

Quanto a outros achados, Gomes e colaboradores em 2007 realizaram um estudo com 402 mulheres com CM onde avaliaram a presença de alterações comuns como a 5382insC e também variantes presentes nos exons 11 do *BRCA1* e 10 e 11 do *BRCA2*. A mutação 5382insC representou 56% de todas as mutações da pesquisa. Constatou-se que esta mutação está presente em 1,3% de todas as pacientes brasileiras com CM.

Em um estudo realizado por Gorski *et al*., (2000), foi avaliado 66 famílias polonesas onde pelo menos três mulheres foram afetadas pelo câncer de mama ou de ovário e no mínimo uma destas três foi diagnosticada antes dos 50 anos de idade. Foram encontradas mutações em 35 famílias (53%), 18 famílias apresentaram a mutação de *BRCA1* 5382insC. Esta variante representou 51% das mutações identificadas.

Em 2005, Dufloth e colaboradores publicaram um estudo realizado no Brasil, onde foram selecionados 31 pacientes com CM para detecção de mutações em *BRCA1* e *BRCA2* com o intuito de encontrar um perfil genético para a população. Foram identificadas quatro mutações sendo apenas uma delas no *BRCA1*. A mutação encontrada foi do tipo frameshift localizada no códon 1756 do éxon 20, a variante de *BRCA1* 5382insC.

De acordo com Gayther *et al*., (1997) 86% de casos de câncer de ovário (CO) familiar na Rússia pode estar relacionado a variantes do gene *BRCA1*, como 4153delAG e 5382insC. Em 2001, De Los Rios e colaboradores realizaram estudos com família canadenses e constataram que grande parte das famílias com ancestrais poloneses que possuem mutações, tem a mutação *BRCA1* 5382insC.

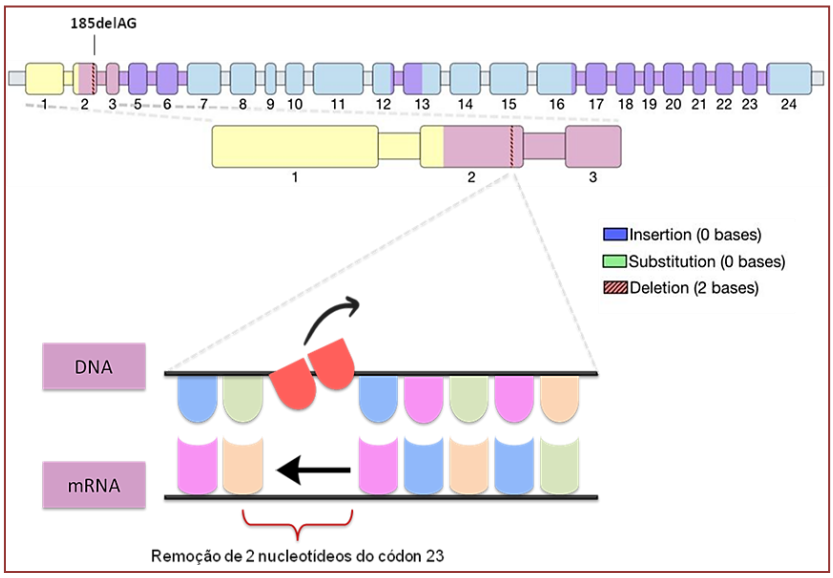
Tabela 2. Artigos que abordam as variantes *BRCA1* 185delAG.

Variante de *BRCA1* 185delAG	
Autor	Título
AH MEW et al., 2002	Haplotype analysis of a BRCA1: 185delAG mutation in a Chilean family supports its Ashkenazi origins.
HARTWIG et al., 2013	Prevalence of the BRCA1 c. 68_69delAG (BIC: 185delAG) mutation in women with breast cancer from north-central Poland and a review of the literature on other regions of the country.
ROA et al., 1996	Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2.
WANG et al., 2012	BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures

Fonte: Próprios autores

Outra variante considerada patogênica pelo Clinvar que é muito associada a casos de câncer mama hereditário é a variante c. 68_69delAG (rs80357914), também encontrada na literatura como 185delAG (Shattuck-Eidens *et al.*, 1995) (Tabela 2). A mutação 185delAG é do tipo frameshift por deleção, é o resultado da remoção de 2 nucleotídeos no códon 23 do éxon 2 ocasionando a criação de um códon de parada na posição 39. Essa alteração leva ao término adiantado da tradução e consequentemente favorecendo o truncamento da proteína (Buisson *et al.*, 2006)

Figura 5: Posição da mutação *BRCA1* 185delAG.



Fonte: Adaptado de BRCA Exchange.

Em 2012, Wang e colaboradores realizaram uma meta-análise com mais de 29 estudos publicados no período de 2000 a 2010 onde constatam que sua frequência em 2.128 casos de CM era de 0,072. Esta variante é uma das três variantes fundadoras encontradas em pessoas com ascendência judaica Ashkenazi. A variante foi identificada em 20% das mulheres judias Ashkenazi diagnosticadas com CM antes de completar 42 anos. (Offit *et al*., 1996; Struewing *et al*., 1997; Abeliovich *et al*., 1997; Laitman *et al*., 2013).

Em 1996 um estudo conduzido por Roa e colaboradores com o objetivo de analisar a prevalência de mutações dos genes *BRCA1* e *BRCA2* em pessoas judias Ashkenazi que não foram selecionados para CM, foi identificado uma frequência de portadores de 1,09% para a mutação *BRCA1* c.185delAG. Já em 2002, um relato de caso conduzido por Ah Mew e colaboradores foi detectado a presença da mutação185delAG em uma família chilena sem ascendência judaica onde seu haplótipo era igual ao encontrado na população judaica Ashkenazi. Esta constatação reflete da definição étnica em relação a detecção variantes fundadoras em populações sem origem judaica Ashkenazi.

A mutação *BRCA1* 185delAG faz parte do grupo de mutações patogênicas onde sua incidência varia conforme diferentes populações (Ferla *et al*., 2007). Em 2013 Hartwig e colaboradores conduziram uma pesquisa a respeito da prevalência da mutação *BRCA1* c.68_69delAG, que ocorre frequentemente em judeus Ashkenazi, nas mulheres com CM do centro-norte da Polônia. Foram testadas 252 mulheres com CM que não tivessem as mutações c.5266dupC, c.181T>G ou c.4034delA, independentemente histórico de câncer na família. A mutação foi detectada em uma mulher (0,4%) das 252 que foram diagnosticadas com CM aos 43 anos. Posto isso, a ocorrência dessa mutação na população polonesa pode estar associada com a integração dos judeus Ashkenazi no território Polonês. A mutação c.68_69delAG foi detectada com frequência na população Ashkenazi, esse fator ancestral corrobora com efeito de mutação fundadora (Berman *et al*., 1996).

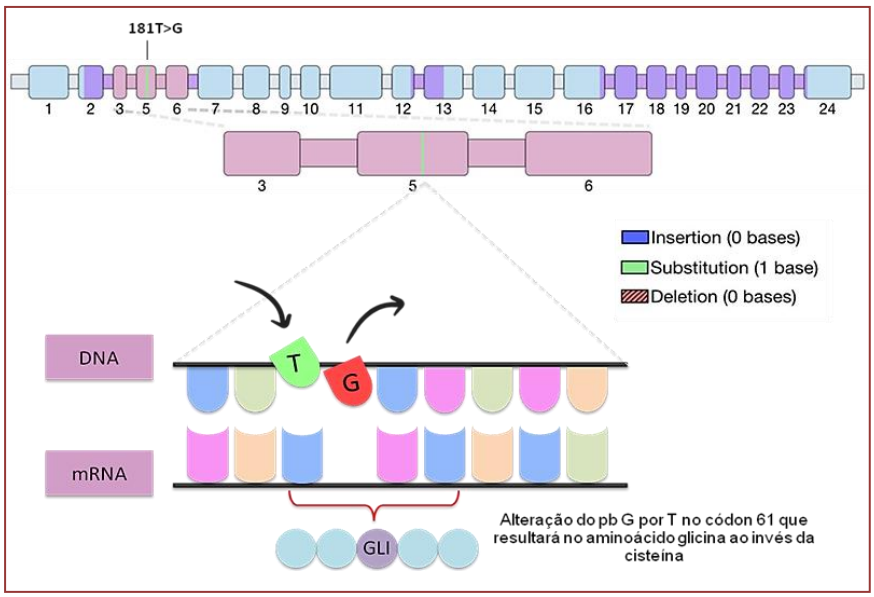
Tabela 3. Artigos que abordam as variantes *BRCA1* 181T>G.

Variante de *BRCA1* 181T>G	
Autor	Título
DORACZYNSKA-KOWALIK et al., 2022	Detection of BRCA1/2 pathogenic variants in patients with breast and/or ovarian cancer and their families. Analysis of 3,458 cases from Lower Silesia (Poland) according to the diagnostic algorithm of the National Cancer Control Programme.
SANTONOCITO et al., 2020	Spectrum of germline BRCA1 and BRCA2 variants identified in 2351 ovarian and breast cancer patients referring to a reference cancer hospital of Rome.
SAVKOVA et al., 2023	Genetic Analysis of Multiple Primary Malignant Tumors in Women with Breast and Ovarian Cancer

Fonte: Próprios autores

A variante de *BRCA1* c.181T>G também é encontrada na literatura como Cys61Gly, 300T>G ou C61G, é considerada uma mutação missense que ocorre no domínio RING de *BRCA1* no códon 61 do exon 5 (Figura 4). Nessa variante acontece a alteração de 1pb por outra (T>G) que resulta na conversão do aminoácido cisteína em glicina. Consequência disso é a perda da atividade proteica na via de reparo de danos ao DNA podendo desencadear o aparecimento do câncer de mama (Ruffiner *et al*., 2001; Slaoui *et al*;. 2014; Tazzite *et al*., 2014).

Figura 6: Posição da mutação *BRCA1* Cys61Gly.



Fonte: Adaptado de BRCA Exchange

Em 2020, foi realizado um estudo na Roma conduzido por Santonocito e colaboradores onde 2.351 pacientes com CM e/ou C foram submetidos a uma análise genética dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Entre os pacientes selecionados, 517 (22%) apresentaram ser portadores de mutação em *BRCA1/2*. Foi detectado em 249 indivíduos variantes do *BRCA1.* A variante 181T>G (p.Cys61Gly) apresentou uma frequência em 13 indivíduos (5,2%). As variantes mais comuns identificadas foram as fundadoras c.5266dupC e c.181T> G, características de judeus Ashkenazi e da Europa Central, respectivamente (HAMEL *et al*., 2011; KAUFMAN *et al*., 2009). A mutação 181T>G foi descrita como uma mutação fundadora na Europa Central (Tazzite *et al*., 2012).

Na Baixa Silésia (Polônia) 3458 pacientes e familiares com CM e/ou CO participaram de um estudo que tinha como objetivo identificar variantes patogênicas de *BRCA1/2.* Foram testados 3400 pacientes para variantes patogênicas frequentes na população polonesa, onde cinco delas eram mutações fundadoras de *BRCA1* (c.5266dup, c.181T>G, c.68_69del, c.3700_3704del e c.4035del) duas variantes *PALB2* e três de *CHEK2.* O Estudo reportou a presença das cinco variantes em 103 pacientes com câncer e parentes selecionados. A Variante c.181T>G foi responsável por 22,92%, de todas as variantes *de BRCA1/2* detectadas (Doraczynska-Kowalik *et al*., 2022)

Uma pesquisa realizada na Rússia relatou a presença da variante *BRCA1* T300G (Cys61Gly) em apenas uma mulher das 60 mulheres com neoplasias malignas múltiplas primárias, incluindo CM /ou CO que participaram do estudo. Neste estudo foi feito um sequenciamento genômico acerca de oito mutações germinativas que teve como objetivo de realizar uma análise genética de múltiplos tumores malignos primários em mulheres com CM e CO (Savkova *et al*., 2023).

Aproximadamente 2.000 variantes de BRCA1/2 já foram descritas na literatura (Evans *et al*., 2005), no entanto, não existe uma comprovação concreta do seu real impacto. Quando se trata de diferentes tipos de variantes, mutações deletérias como deleções, inserções e substituições que codificam proteínas facilitam o entendimento das mesmas, ao contrário das variantes que apresentam significado incerto relacionado a função da proteína final, que nesse caso requerem experimentos complexos que desafiam uma aplicação sistemática (Millot *et al*., 2012; Guidugli *et al*., 2013; Starita *et al*., 2015).

A avaliação do impacto clínico de uma mutação no gene BRCA1/2 dependem da possibilidade de desenvolver câncer, taxa de sobrevivência e a viabilidade do tratamento (Bryant *et al*., 2005). Atualmente, os bancos de dados genéticos fornecem recursos de buscas personalizadas e reúnem informações sobre a significância clínica das variantes de BRCA, mas devido a ausência de evidências que apoiem uma classificação certeira, existem inúmeras variantes classificadas com significado incerto (Béroud *et al*., 2016; Cline *et al*., 2016). À medida que o tempo passa outras novas variantes são relatadas em pesquisas a fora enfatizando o fato de que a classificação das variantes são de extrema importância clínica.

As chances de uma pessoa ser portadora de uma mutação de *BRCA* variam de acordo com as diferentes populações e etnias. A prevalência calculada da população geral varia de 0,2% a 0,8% (Group, 2000; Manickam *et al*., 2018). No entanto, observa-se que a ocorrência de mutações em *BRCA* aumenta quando o grupo de pessoas é portador de uma mutação fundadora, como é o caso em judeus Ashkenazim, onde a taxa sobe para 1 em 40 (Balmana *et al*., 2011; Rosenthal *et al*., 2015.

No Catar, a população exibe um perfil genético de grande tamanho familiar com uma elevada taxa de consanguinidade. O câncer de mama foi a neoplasia mais relatada entre as mulheres, alguns estudos observaram que mutações em *BRCA1* são mais sobressalentes em pacientes com câncer de mama graças ao efeito fundador tribal (Bujassoum *et al*., 2013; Bujassoum *et al*., 2017). Em comparação, foi descoberto que na China é mais comum mulheres com câncer de mama serem portadoras mutações no gene *BRCA2* do que em *BRCA1*, diferente de pacientes do ocidente (Tung *et al*., 2016).

Ao passo que uma variante é encontrada frequentemente em um grupo especifico de pessoas, entender e desmistificar seu efeito fundador é de extrema importância para a eficácia de táticas em prevenção ao câncer. Em mulheres judias, as variantes fundadoras c.5266dupC e c.66_67delAG de *BRCA1* são utilizadas como base para prevenção do câncer de mama.Na porção ocidental do continente africano, na Nigéria, foi encontrado a mutação c.303 T>G de caráter fundador na população iorubá em 4 famílias (Zhang *et al*., 2009).

A partir de um estudo polonês, onde relataram a existência de três variantes fundadoras de *BRCA1*, a *c.5266dupC, c.4035delA e c.181 T > G, se iniciaram pesquisas em outros países da região que buscaram confirmar a semelhança no padrão mutacional (Gorski et al., 2000). A proporção das mesmas três variantes também foi relatada na Lituânia e Bielorrússia (Uglanitsa et al., 2010; Janavicius et al., 2014). Estudos por vário*

*grupos na Letônia apontaram que as variantes c.5266dupC e c.4035delA representam mais de 80% de todas as variantes patogênicas identificadas em todo o gene BRCA1 que contribuem para o aparecimento do câncer de mama e ovário (*Tikhomirova *et al*., 2005; Plakhins *et al*., 2011). As mesma duas variantes foram relatadas no oeste da Rússia e na Estônia (Foretova *et al*., 2004; Sokolenko *et al*., 2007). Já a variante c.181T>G foi encontrada com menos frequência na Letônia comparada a Polônia (Berzina *et al*., 2013).

Sendo assim, entende-se que as mutações de BRCA1/2 variam de acordo com a população e sua distribuição geográfica. Mutações fundadoras específicas da região já foram relatadas em diversos países como Holanda, Suécia, Islândia, Alemanha, Noruega, Espanha, França, países da Europa Oriental e Central e judeus Asquenazes (Hall *et al*., 2009; Nelson *et al*., 2014).

A identificação de mutações fundadoras em BRCA tem também como principal objetivo desenvolver testes acessíveis em diferentes populações. Na Polônia, por exemplo, as três variantes fundadoras relatadas representam aproximadamente 90% de todas do BRCA (Gorski *et al*., 2004; Kowalik *et al*., 2018), No Chile, nove variantes identificadas como fundadoras equivalem a 78% de todas as variantes de BRCA1 e BRCA2 descritas (Alvarez *et al*., 2017).

No Brasil, em virtude das limitações do sistema de saúde brasileiro, o conhecimento sobre as variantes patogênicas é restrito. Os testes genéticos não são disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o qual oferece amparo médico a quase 70% da população (Palmero *et al*., 2007; Ashton- Prolla *et al*., 2015), dessa forma dificultando o acesso a dados que possibilitem uma padronização. O rastreio de variantes patogênicas em indivíduos com câncer de mama vai além do paciente, abrangendo todo o histórico familiar que envolve aconselhamento genético e testes em outros integrantes da família.

A triagem genética é utilizada na prevenção de doenças genéticas, na intenção de iniciar um tratamento precoce, evitando o agravo da doença. Segundo Jorde *et al.,* (2000), os familiares que possuem membros com câncer devem ser alertados quanto à possibilidade da doença ser herdada, além de instruir a respeito do diagnóstico precoce, em beneficio de uma melhor qualidade vida individual e familiar.

Atualmente as terapias disponíveis para o câncer de mama apresentam-se de duas formas, tratamento locorregional que são as radioterapias e cirurgias, e os tratamentos sistêmicos como a quimioterapia e hormonioterapia (INCA, 2015). Nesse contexto, existem as terapias gênicas que estão ocupando espaço significativo no que diz respeito a estratégias eficazes para o tratamento da doença. Partindo da possibilidade de corrigir defeitos no gene e modular a expressão gênica, essa terapia se faz promissora no combate ao câncer de mama (Naldini, 2015; Yin, *et al*., 2014).

Já se sabe que nenhuma técnica para pesquisa de mutações garante a identificação de 100% das mutações no gene *BRCA1/2* que pode causar câncer. Dentre as técnicas de rastreio mais utilizadas existe o sequenciamento direto e o teste da proteína truncada, apesar do sequenciamento direto ser complicado e possuir um custo elevado, estes testes ainda são considerados padrão, com uma taxa de 85% de detecção (Bellosillo e Tusquets, 2006).

Já relacionado a métodos de prevenção para pacientes portadores de mutações em BRCA, o uso de moduladores seletivos de estrógeno tamoxifeno e raloxifeno mostrou-se ser efetivo em até 50% de casos com risco de câncer de mama invasivo (Fisher *et al*., 2005;

Vogel, 2006). A cirurgia profilática pode chegar a reduzir as chances de desenvolver o câncer de mama em até 90% (Hartmann, 2001; Meijers-Heijboer, 2001; Domechek, 2010; Kass, 2010).

Um tratamento que recebe destaque quando se trata de terapia alvo molecular são os inibidores da polimerase poly(ADP-ribose), ou inibidores de PARP, tendo como seu principal representante o olaparib, no qual apresentam resultados de eficácia apenas em pacientes com mutações em BRCA1/2 com câncer de mama e ovário (Bryant, 2005; Ashworth, 2008; Fong, 2009; Audeh, 2010). Partindo do anseio pela detecção mutações em pessoas com predisposição genética ao câncer, as pesquisas e ensaios buscam elucidar estratégias de tratamento e prevenção para pacientes portadores de variantes patogênicas de BRCA, fator que futuramente será decisivo quanto a conduta clinica mais viável e com maior taxa de sobrevivência.

5. CONCLUSÃO

A compreensão detalhada do impacto funcional das variantes patogênicas do gene *BRCA1* em diferentes populações é fundamental para o diagnóstico e tratamento do câncer de mama. O padrão das variantes varia conforme a etnia do grupo estudado e a frequência com que são relatadas nas pesquisas. Em muitos casos, a mutação fundadora c.5266dup se destaca, o que justifica sua inclusão em testes genéticos.

Estabelecer um padrão das variantes mais comuns no Brasil e incorporá-las aos testes genéticos pode facilitar a conduta médica, promovendo estratégias de tratamento mais direcionadas, personalizadas e eficientes. Isso inclui terapias alvo-moleculares, que visam aumentar a taxa de sobrevida de pacientes com câncer de mama, oferecendo alternativas menos invasivas, como as quimioterapias, e melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

[1] ABREU, Renata Barbosa Vahia de. Indutor de Transleitura como Agente de Restauração de Mutações Inativadoras no Gene BRCA1. 2018.

[2] ADAMI, H.-O. *et al*. Primary and secondary prevention in the reduction of cancer morbidity and mortality. **European journal of cancer**, v. 37, p. 118-127, 2001.

[3] AH MEW, N. *et al*. Haplotype analysis of a BRCA1: 185delAG mutation in a Chilean family supports its Ashkenazi origins. **Clinical genetics**, v. 62, n. 2, p. 151-156, 2002.

[4] ALVARENGA, Marcelo *et al*. Contribuição do patologista cirúrgico para o diagnóstico das síndromes do câncer hereditário e avaliação dos tratamentos cirúrgicos profiláticos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, p. 167-177, 2003.

[5] ALVAREZ, Carolina *et al*. BRCA1 and BRCA2 founder mutations account for 78% of germline carriers among hereditary breast cancer families in Chile. **Oncotarget**, v. 8, n. 43, p. 74233, 2017.

[6] American Cancer Society (2018) *Global Cancer Facts & Figures* 4ª edição. American Cancer Society, Atlanta, GA

[7] American Cancer Society (2019) *Breast Cancer Facts & Figures 2019-2020*. American Cancer Society, Atlanta, GA

[8] APOSTOLOU, Paraskevi; FOSTIRA, Florentia. Câncer de mama hereditário: a era dos novos genes de suscetibilidade. **Pesquisa BioMed internacional** , v. 1, pág. 747318, 2013.

[9] ASHTON-PROLLA, Patrícia *et al*. Genomic analysis in the clinic: benefits and challenges for health care professionals and patients in Brazil. **Journal of community genetics**, v. 6, p. 275-283, 2015.

[10] ASHWORTH, Alan. A synthetic lethal therapeutic approach: poly (ADP) ribose polymerase inhibitors for the treatment of cancers deficient in DNA double-strand break repair. **Journal of Clinical Oncology**, v. 26, n. 22, p. 3785-3790, 2008.

[11] AUDEH, M. William *et al*. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. **The lancet**, v. 376, n. 9737, p. 245-251, 2010.

[12] BALMANA, J. *et al*. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. **Annals of Oncology**, v. 22, p. vi31-vi34, 2011.

[13] BCAEXCHANGE. Disponível em: https://brcaexchange.org/variant/CA001182. Acesso em: 11 jul. 2024.

[14] BCAEXCHANGE. https://brcaexchange.org/variant/CA003404. Acesso em: 11 jul. 2024.

[15] BCAEXCHANGE. https://brcaexchange.org/variant/CA003783. Acesso em: 11 jul. 2024.

[16] BELLOSILLO, Beatriz; TUSQUETS, Ignacio. Pitfalls and caveats in BRCA sequencing. **Ultrastructural pathology**, v. 30, n. 3, p. 229-235, 2006.

[17] BERMAN, David B. *et al*. Duas origens distintas de uma mutação BRCA1 comum em famílias com câncer de mama e ovário: um estudo genético de 15 parentes com mutação 185delAG. **Revista americana de genética humana** , v. 58, n. 6, pág. 1166, 1996.

[18] BÉROUD, Christophe *et al*. BRCA share: a collection of clinical BRCA gene variants. **Human Mutation**, v. 37, n. 12, p. 1318-1328, 2016.

[19] BERZINA, Dace *et al*. BRCA1/2 mutation screening in high-risk breast/ovarian cancer families and sporadic cancer patient surveilling for hidden high-risk families. **BMC medical genetics**, v. 14, p. 1-5, 2013.

[20] BOCHAR, Daniel A. *et al*. BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer. **Cell**, v. 102, n. 2, p. 257-265, 2000.

[21] BORGES-OSÓRIO, Maria R.; ROBINSON, Wanyce M. **Genética Humana 3ed**. Artmed Editora, 2013.

[22] BOTTAI, Giulia *et al*. Progress in nonviral gene therapy for breast cancer and what comes next?. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 17, n. 5, p. 595-611, 2017..

[23] BRAY, Freddie *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

[24] BREAST CANCER ASSOCIATION CONSORTIUM. Breast cancer risk genes—association analysis in more than 113,000 women. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 5, p. 428-439, 2021.

[25] BRYANT, Helen E. *et al*. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. **Nature**, v. 434, n. 7035, p. 913-917, 2005.

[26] BRYANT, Helen E. *et al*. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. **Nature**, v. 434, n. 7035, p. 913-917, 2005.

[27] BUISSON, Monique *et al*. The 185delAG mutation (c. 68_69delAG) in the BRCA1 gene triggers translation reinitiation at a downstream AUG codon. **Human mutation**, v. 27, n. 10, p. 1024-1029, 2006.

[28] BUJASSOUM, S. M.; BUGREIN, H. Abubaker; AL-SULAIMAN, R. Genotype and phenotype correlation of breast cancer in BRCA mutation carriers and non-carriers. **J Cancer Sci Ther**, v. 9, n. 3, 2017.

[29] BUJASSOUM, Salha Mohammed *et al*. QATAR'S EXPERIENCE WITH HEREDITARY BREAST AND OVARIAN CANCER AND HIGH RISK CLINIC: A RETROSPECTIVE STUDY 2013.

[30] BULLER, Richard E. *et al*. Associação entre inativação não aleatória do cromossomo X e mutação BRCA1 no DNA germinativo de pacientes com câncer de ovário. **Revista do Instituto Nacional do Câncer** , v. 91, n. 4, pág. 339-346, 1999.

[31] CARVALHO, Marcelo A.; COUCH, Fergus J.; MONTEIRO, Alvaro NA. Functional assays for BRCA1 and BRCA2. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 2, p. 298-310, 2007.

[32] CAVA, Claudia; BERTOLI, Gloria; CASTIGLIONI, Isabella. Integrating genetics and epigenetics in breast cancer: biological insights, experimental, computational methods and therapeutic potential. **BMC systems biology**, v. 9, p. 1-36, 2015.

[33] CESAR, Paula Gabriela Casa *et al*. Utilização de plataforma gênica no prognóstico do câncer de mama. **Arquivos brasileiros de ciências da saúde**, v. 37, n. 3, 2012.

[34] CHENEVIX-TRENCH, Georgia *et al*. An international initiative to identify genetic modifiers of cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1 and BRCA2 (CIMBA). **Breast Cancer Research**, v. 9, p. 1-4, 2007.

[35] CLAPPERTON, Julie A. *et al*. Structure and mechanism of BRCA1 BRCT domain recognition of phosphorylated BACH1 with implications for cancer. **Nature structural & molecular biology**, v. 11, n. 6, p. 512-518, 2004.

[36] CLARK, Serena L. *et al*. Função-estrutura do supressor tumoral BRCA1. **Revista de biotecnologia computacional e estrutural** , v. 1, pág. e201204005, 2012.

[37] CLINE, Melissa S. *et al*. BRCA Challenge: BRCA Exchange as a global resource for variants in BRCA1 and BRCA2. **PLoS genetics**, v. 14, n. 12, p. e1007752, 2018.

[38] COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER *et al*. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease. **The Lancet**, v. 358, n. 9291, p. 1389-1399, 2001.

[39] COUCH, Fergus J.; WEBER, Barbara L. Mutations and polymorphisms in the familial early-onset breast cancer (BRCA1) gene. **Human mutation**, v. 8, n. 1, p. 8-18, 1996.

[40] DA COSTA E SILVA CARVALHO, Simone *et al*. Germline variants in DNA repair genes associated with hereditary breast and ovarian cancer syndrome: analysis of a 21 gene panel in the Brazilian population. **BMC medical genomics**, v. 13, p. 1-24, 2020.

[41] DANTAS, Élida Lívia Rafael *et al*. Genética do câncer hereditário. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n. 3, p. 263-269, 2009.

[42] DAPIC, Vesna; CARVALHO, Marcelo A.; MONTEIRO, Alvaro NA. Breast cancer susceptibility and the DNA damage response. **Cancer Control**, v. 12, n. 2, p. 127-136, 2005.

[43] DAPIC, Virna; MONTEIRO, Alvaro NA. Functional implications of BRCA1 for early detection, prevention, and treatment of breast cancer. **Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression**, v. 16, n. 3, 2006.

[44] DE LOS RIOS, Patricia *et al*. Founder mutations of BRCA1 and BRCA2 in North American families of Polish origin that are affected with breast cancer. **The American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 2, p. 546, 2001.

[45] DENG, Chu-Xia; BRODIE, Steven G. Roles of BRCA1 and its interacting proteins. **Bioessays**, v. 22, n. 8, p. 728-737, 2000.

[46] DEVAUX, Rebecca S.; HERSCHKOWITZ, Jason I. Beyond DNA: the role of epigenetics in the premalignant progression of breast cancer. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 23, n. 4, p. 223-235, 2018.

[47] DEVITA JUNIOR, Vincent T.; HELLMAN, Samuel; ROSENBERG, Steven A. Cancer: principles & practice of oncology. In: **Cancer: principles & practice of oncology**. 2001. p. lxxii, 3.235-lxxii, 3.235.

[48] DOMCHEK, Susan M. *et al*. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality. **Jama**, v. 304, n. 9, p. 967-975, 2010.

[49] DORACZYNSKA-KOWALIK, Anna *et al*. Detection of BRCA1/2 pathogenic variants in patients with breast and/or ovarian cancer and their families. Analysis of 3,458 cases from Lower Silesia (Poland) according to the diagnostic algorithm of the National Cancer Control Programme. **Frontiers in Genetics**, v. 13, p. 941375, 2022.

[50] DUARTE, Ana Paula Marques. Caracterização de mutações no gene BRCA1 associadas ao câncer hereditário de mama. 2000.

[51] DUFLOTH, Rozany Mucha *et al*. Análise de mutações nos genes BRCA1e BRCA2 em pacientes brasileiros com carcinoma de mama e história familar positiva. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 123, p. 192-197, 2005.

[52] DUROCHER, Francine *et al*. Comparison of BRCA1 polymorphisms, rare sequence variants and/or missense mutations in unaffected and breast/ovarian cancer populations. **Human molecular genetics**, v. 5, n. 6, p. 835-842, 1996.

[53] DUTIL, Julie *et al*. The spectrum of BRCA1 and BRCA2 alleles in Latin America and the Caribbean: a clinical perspective. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 154, p. 441-453, 2015.

[54] ENSEMBL. Disponível em: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?db=core;g=ENSG00000012048;r=17:43044295-43170245. Acesso em: 02 ago. 2024.

[55] FACKENTHAL, James D.; OLOPADE, Olufunmilayo I. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 12, p. 937-948, 2007.

[56] FERLA, R. *et al*. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. **Annals of Oncology**, v. 18, p. vi93-vi98, 2007.

[57] FISHER, Bernard *et al*. Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 22, p. 1652-1662, 2005.

[58] FONG, Peter C. *et al*. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 2, p. 123-134, 2009.

[59] FORETOVA, Lenka *et al*. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. **Human mutation**, v. 23, n. 4, p. 397-398, 2004.

[60] FOULKES, William D. Inherited susceptibility to common cancers. **New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 20, p. 2143-2153, 2008.

[61] FRIEDMAN, Lori S. *et al*. Confirmação de BRCA1 por análise de mutações germinativas ligadas ao câncer de mama e de ovário em dez famílias. **Genética da natureza** , v. 8, n. 4, pág. 399-404, 1994.

[62] GLOBOCAN, Cancer fact sheets: Breast Cancer, 2012. Disponível em: . Acesso em: 06/06/2017.

[63] GOMES, Magda CB *et al*. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Brazil. **Breast cancer research and treatment**, v. 103, p. 349-353, 2007.

[64] GONZALEZ-ANGULO, Ana M. *et al*. Women age≤ 35 years with primary breast carcinoma: disease features at presentation. **Cancer**, v. 103, n. 12, p. 2466-2472, 2005.

[65] GORSKI, B. *et al*. Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer. **The American Journal of Human Genetics**, v. 66, n. 6, p. 1963-1968, 2000.

[66] GÓRSKI, Bohdan *et al*. A high proportion of founder BRCA1 mutations in Polish breast cancer families. **International journal of cancer**, v. 110, n. 5, p. 683-686, 2004.

[67] GROUP, Anglian Breast Cancer Study. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. **British Journal of Cancer**, v. 83, n. 10, p. 1301, 2000.

[68] GUIDUGLI, Lucia *et al*. A classification model for BRCA2 DNA binding domain missense variants based on homology-directed repair activity. **Cancer research**, v. 73, n. 1, p. 265-275, 2013.

[69] GUINDALINI, Rodrigo Santa Cruz *et al*. Detection of germline variants in Brazilian breast cancer patients using multigene panel testing. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 4190, 2022.

[70] HALL, Michael J. *et al*. BRCA1 and BRCA2 mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer. **Cancer**, v. 115, n. 10, p. 2222-2233, 2009.

[71] HAMEL, Nancy *et al*. Sobre a origem e difusão do BRCA1 c. 5266dupC (5382insC) em populações europeias. **Revista Europeia de Genética Humana** , v. 3, pág. 300-306, 2011.

[72] HARTMAN, Anne-Renee; FORD, James M. BRCA1 induces DNA damage recognition factors and enhances nucleotide excision repair. **Nature genetics**, v. 32, n. 1, p. 180-184, 2002.

[73] HARTMANN, Lynn C. *et al*. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 93, n. 21, p. 1633-1637, 2001.

[74] HEYN, Holger *et al*. DNA methylation profiling in breast cancer discordant identical twins identifies DOK7 as novel epigenetic biomarker. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 1, p. 102-108, 2013.

[75] HU, Chunling *et al*. Um estudo de base populacional de genes previamente implicados no câncer de mama. **New England Journal of Medicine** , v. 5, pág. 440-451, 2021.

[76] [1]INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Programa Nacional de Controle de Câncer de Mama. Rio de Janeiro: INCA; 2011. 15 p. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/fad72d004eb684b68b379bf11fae00ee/pncc_mama.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=fad72d004eb684b68b379bf11fae00ee Acesso em: 25 mar. 2024.

[77] [2]INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER: Encontro Internacional sobre Rastreamento do Câncer de Mama: resumo das apresentações. Caderno resumo, Rio de Janeiro, INCA, 2011. Disponível em: http://www.inca.gov.br. Acesso em: 29 mar. 2024.

[78] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER . Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2008. 628 p. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/enfermagem/index.asp Acesso em: 25 mar. 2024.

[79] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA 2012: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2011 [acesso 2013 Jan 22]. 118 p. Disponível em:http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/estimativa20122111.pdf

[80] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2023**: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa Acesso em: 25 mar. 2024.

[81] INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER: Diretrizes para a detecção precoce do câncer de mama no Brasil. Ministério da Saúde: INCA, 2015. Disponível em: http://www. inca.gov.br. Acesso em: 29 mar. 2024.

[82] INUMARU, Lívia Emi; SILVEIRA, Érika Aparecida da; NAVES, Maria Margareth Veloso. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. **Cadernos de saude publica**, v. 27, n. 7, p. 1259-1270, 2011.

[83] JANAVICIUS, R. *et al*. Comprehensive BRCA1 and BRCA2 mutational profile in Lithuania. Cancer Genet. 2014; 207: 195–205.

[84] JORDE, L. B. *et al*. Genética do câncer. **Genética Médica. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, p. 197-212, 2000.

[85] JUWLE, Abida; SARANATH, Dhananjaya. BRCA1/BRCA2 gene mutations/SNPs and BRCA1 haplotypes in early-onset breast cancer patients of Indian ethnicity. **Medical oncology**, v. 29, p. 3272-3281, 2012.

[86] KAAS, Reinoutje *et al*. Prophylactic mastectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: very low risk for subsequent breast cancer. **Annals of surgery**, v. 251, n. 3, p. 488-492, 2010.

[87] KAUFMAN, Bella *et al*. Haplótipo da mutação C61G BRCA1 em indivíduos poloneses e judeus. **Testes Genéticos e Biomarcadores Moleculares** , v. 13, n. 4, pág. 465-469, 2009.

[88] KLEIBL, Zdenek; KRISTENSEN, Vessela N. Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. **The Breast**, v. 28, p. 136-144, 2016.

[89] KLUG, William S. *et al*. **Conceitos de genética**. Artmed Editora, 2009.

[90] KOWALIK, Artur *et al*. BRCA1 founder mutations and beyond in the Polish population: A single-institution BRCA1/2 next-generation sequencing study. **PloS one**, v. 13, n. 7, p. e0201086, 2018.

[91] LE PAGE, Florence *et al*. BRCA1 and BRCA2 are necessary for the transcription-coupled repair of the oxidative 8-oxoguanine lesion in human cells. **Cancer research**, v. 60, n. 19, p. 5548-5552, 2000.

[92] LINDOR, Noralane M. *et al*. A review of a multifactorial probability-based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). **Human mutation**, v. 33, n. 1, p. 8-21, 2012.

[93] LINGER, Rebecca J.; KRUK, Patricia A. BRCA1 16 years later: risk-associated BRCA1 mutations and their functional implications. **The FEBS journal**, v. 277, n. 15, p. 3086-3096, 2010.

[94] MANICKAM, Kandamurugu *et al*. Exome sequencing–based screening for BRCA1/2 expected pathogenic variants among adult biobank participants. **JAMA Network Open**, v. 1, n. 5, p. e182140-e182140, 2018.

[95] MATHE, Andrea; SCOTT, Rodney J.; AVERY-KIEJDA, Kelly A. miRNAs and other epigenetic changes as biomarkers in triple negative breast cancer**. International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 12, p. 28347-28376, 2015.

[96] MEIJERS-HEIJBOER, Hanne *et al*. Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 3, p. 159-164, 2001.

[97] MIGUEL, Diego Santana Chaves Geraldo *et al*. The germline mutational landscape of BRCA1 and BRCA2 in Brazil. 2018.

[98] MIKI, Yoshio *et al*. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. **Science**, v. 266, n. 5182, p. 66-71, 1994.

[99] MILLOT, Gaël A. *et al*. A guide for functional analysis of BRCA1 variants of uncertain significance. **Human mutation**, v. 33, n. 11, p. 1526-1537, 2012.

[100] MILLOT, Gaël A. *et al*. A guide for functional analysis of BRCA1 variants of uncertain significance. **Human mutation**, v. 33, n. 11, p. 1526-1537, 2012.

[101] MONTEIRO, Alvaro NA; AUGUST, Avery; HANAFUSA, Hidesaburo. Evidence for a transcriptional activation function of BRCA1 C-terminal region. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 24, p. 13595-13599, 1996.

[102] NALDINI, Luigi. Gene therapy returns to centre stage. **Nature**, v. 526, n. 7573, p. 351-360, 2015.

[103] NAROD, Steven A.; FOULKES, William D. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 9, p. 665-676, 2004.

[104] NAROD, Steven A.; OFFIT, Kenneth. Prevention and management of hereditary breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 8, p. 1656-1663, 2005.

[105] NELSON, Heidi D. *et al*. Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for BRCA-related cancer in women: a systematic review to update the US Preventive Services Task Force recommendation. **Annals of internal medicine**, v. 160, n. 4, p. 255-266, 2014.

[106] NUSSBAUM, Robert. **Thompson & Thompson genética médica**. Elsevier Brasil, 2008.

[107] PAIXÃO, Daniele *et al*. Characterization of genetic predisposition to molecular subtypes of breast cancer in Brazilian patients. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 976959, 2022.

[108] PALMERO, Edenir Inez *et al*. Cancer genetic counseling in public health care hospitals: The experience of three Brazilian services. **Public Health Genomics**, v. 10, n. 2, p. 110-119, 2007.

[109] PALUCH-SHIMON, Shani *et al*. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. **Annals of Oncology**, v. 27, p. v103-v110, 2016.

[110] PEÓN, Nora Ruisánchez *et al*. Registro de cáncer de mama hereditário. **Revista cubana de oncologia**, v. 16, n. 1, p. 48-53, 2000.

[111] PEREIRA, Ashley Amanda Junco *et al*. Mutações genéticas ligadas ao câncer de mama hereditário. **Anais de Iniciação Científica**, v. 20, n. 20, 2023.

[112] PERRI, Francesco *et al*. Epigenetic control of gene expression: Potential implications for cancer treatment. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 111, p. 166-172, 2017.

[113] PHAROAH, Paul DP *et al*. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. **International journal of cancer**, v. 71, n. 5, p. 800-809, 1997.

[114] PINHEIRO, Aline Barros *et al*. Câncer de mama em mulheres jovens: análise de 12.689 casos. **Revista Brasileira de cancerologia**, v. 59, n. 3, p. 351-359, 2013.

[115] PLAKHINS, Grigorijs *et al*. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia. **BMC medical genetics**, v. 12, p. 1-8, 2011.

[116] RAHMAN, Mohammad Mijanur; BRANE, Andrew C.; TOLLEFSBOL, Trygve O. MicroRNAs and epigenetics strategies to reverse breast cancer. **Cells**, v. 8, n. 10, p. 1214, 2019.

[117] REBBECK, Timothy R. *et al*. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations. **Human mutation**, v. 39, n. 5, p. 593-620, 2018.

[118] RICHARDS, Sue *et al*. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-423, 2015.

[119] ROA, Benjamin B. *et al*. Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. **Nature genetics**, v. 14, n. 2, p. 185-187, 1996.

[120] RODRIGUES, Arthur Henrique Fernandes *et al*. Mecanismos epigenéticos no câncer de mama: o papel dos biomarcadores e da medicina personalizada. **Revista InterScientia**, v. 7, n. 2, p. 174-186, 2019.

[121] ROMAGNOLO, Donato F. *et al*. Epigenetics of breast cancer: Modifying role of environmental and bioactive food compounds. **Molecular nutrition & food research**, v. 60, n. 6, p. 1310-1329, 2016.

[122] ROSENTHAL, Eric *et al*. Incidence of BRCA1 and BRCA2 non-founder mutations in patients of Ashkenazi Jewish ancestry. **Breast cancer research and treatment**, v. 149, p. 223-227, 2015.

[123] RUFFNER, Heinz *et al*. Cancer-predisposing mutations within the RING domain of BRCA1: loss of ubiquitin protein ligase activity and protection from radiation hypersensitivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 9, p. 5134-5139, 2001.

[124] SAHA, Tapas *et al*. Regulação transcricional da via de reparo por excisão de base pelo BRCA1. **Revista de Química Biológica** , v. 25, pág. 19092-19105, 2010.

[125] SALZANO, Francisco M. Human races: myth, invention, or reality?. **INTERCIENCIA-CARACAS-**, v. 22, p. 221-227, 1997.

[126] SÁNCHEZ-RIVERA, Francisco J.; JACKS, Tyler. Aplicações do sistema CRISPR – Cas9 na biologia do câncer. **A natureza revê o câncer** , v. 15, n. 7, pág. 387-393, 2015.

[127] SARANTAUS, Laura *et al*. Multiple founder effects and geographical clustering of BRCA1 and BRCA2 families in Finland. **European Journal of Human Genetics**, v. 8, n. 10, p. 757-763, 2000.

[128] SARTORI, Ana Clara N.; BASSO, Caroline S. Câncer de mama: uma breve revisão de literatura[1]. **Perspectiva, Erechim**, v. 43, p. 161, 2019.

[129] SAVAGE, Kienan I.; HARKIN, D. Paul. BRCA 1, a 'complex'protein involved in the maintenance of genomic stability. **The FEBS journal**, v. 282, n. 4, p. 630-646, 2015.

[130] SAVKOVA, Alina *et al*. Genetic Analysis of Multiple Primary Malignant Tumors in Women with Breast and Ovarian Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, p. 6705, 2023.

[131] SCULLY, Ralph *et al*. BRCA1 is a component of the RNA polymerase II holoenzyme. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 11, p. 5605-5610, 1997.

[132] SHIBATA, Atsushi. Regulação da escolha da via de reparo em quebras de fita dupla de DNA de duas extremidades. **Pesquisa de Mutação/Mecanismos Fundamentais e Moleculares de Mutagênese** , v. 51-55, 2017.

[133] SILVA, Bárbara Custódio Rodrigues *et al*. A influência da epigenética no câncer de mama: revisão sistemática. 2021.

[134] SILVA, Gessika Almeida; CASTRO, Nayara Sousa; FIGUEIREDO, Ronildo Oliveira. Mecanismos epigenéticos e a ação da expressão da proteína BRCA na carcinogênese mamária. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 82596-82613, 2020.

[135] SIMARD, Jea *et al*. Common origins of BRCA1 mutations in Canadian breast and ovarian cancer families. **Nature genetics**, v. 8, n. 4, p. 392-398, 1994.

[136] SLAOUI, Meriem *et al*. Breast cancer in Morocco: a literature review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 3, p. 1067-1074, 2014.

[137] SOKOLENKO, Anna P. *et al*. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia. **Familial cancer**, v. 6, p. 281-286, 2007.

[138] SOUZA, Vanessa Oliveira de *et al*. Tempo decorrido entre o diagnóstico de câncer de mama e o início do tratamento, em pacientes atendidas no Instituto de Câncer de Londrina (ICL). **RBM rev. bras. med**, 2008.

[139] SPURDLE, Amanda B. *et al*. ENIGMA—evidence-based network for the interpretation of germline mutant alleles: An international initiative to evaluate risk and clinical significance associated with sequence variation in BRCA1 and BRCA2 genes. **Human mutation**, v. 33, n. 1, p. 2-7, 2012.

[140] STARITA, Lea M. *et al*. Massively parallel functional analysis of BRCA1 RING domain variants. **Genetics**, v. 200, n. 2, p. 413-422, 2015.

[141] STUCKEY, Ashley R.; ONSTAD, Michaela A. Hereditary breast cancer: an update on risk assessment and genetic testing in 2015. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 213, n. 2, p. 161-165, 2015.

[142] TAZZITE, A. *et al*. Specific BRCA1 gene variations amongst young Moroccan breast cancer patients. **Genet Mol Res**, v. 13, n. 1, p. 791-8, 2014.

[143] TAZZITE, Amal *et al*. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Moroccan breast/ovarian cancer families: novel mutations and unclassified variants. **Gynecologic oncology**, v. 125, n. 3, p. 687-692, 2012.

[144] THORLACIUS, Steinunn *et al*. A single BRCA2 mutation in male and female breast cancer families from Iceland with varied cancer phenotypes. **Nature genetics**, v. 13, n. 1, p. 117-119, 1996.

[145] TIKHOMIROVA, Laima *et al*. High prevalence of two BRCA1 mutations, 4154delA and 5382insC, in Latvia. **Familial Cancer**, v. 4, p. 77-84, 2005.

[146] TUNG, Nadine *et al*. Frequency of germline mutations in 25 cancer susceptibility genes in a sequential series of patients with breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 34, n. 13, p. 1460-1468, 2016.

[147] UGLANITSA, N. *et al*. The contribution of founder mutations in BRCA1 to breast cancer in Belarus. **Clinical genetics**, v. 78, n. 4, p. 377-380, 2010.

[148] VAN DER GROEP, Petra; VAN DER WALL, Elsken; VAN DIEST, Paul J. Pathology of hereditary breast cancer. **Cellular oncology**, v. 34, p. 71-88, 2011.

[149] VEGA, Ana *et al*. The R71G BRCA1 is a founder Spanish mutation and leads to aberrant splicing of the transcript. **Human mutation**, v. 17, n. 6, p. 520-521, 2001.

[150] VENKITARAMAN, Ashok R. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. **Cell**, v. 108, n. 2, p. 171-182, 2002.

[151] VENKITARAMAN, Ashok R. Supressão do câncer pelos custodiantes dos cromossomos, BRCA1 e BRCA2. **Ciência** , v. 343, n. 6178, pág. 1470-1475, 2014.

[152] VIEIRA, C.S., *et al*. Oncologia Básica. Teresina, PI: Fundação Quixote, 2012

[153] VOGEL, Victor G. *et al*. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. **Jama**, v. 295, n. 23, p. 2727-2741, 2006.

[154] WANG, Yi *et al*. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. **Genes & development**, v. 14, n. 8, p. 927-939, 2000.

[155] WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective**. American Institute for Cancer Research, 2007.

[156] WU, Leeju C. *et al*. Identification of a RING protein that can interact in vivo with the BRCA1 gene product. **Nature genetics**, v. 14, n. 4, p. 430-440, 1996.

[157] WU, Yanyuan; SARKISSYAN, Marianna; VADGAMA, Jaydutt V. Epigenetics in breast and prostate cancer. **Cancer Epigenetics: Risk Assessment, Diagnosis, Treatment, and Prognosis**, p. 425-466, 2015.

[158] WU, Yuan S. *et al*. Epigenetics in metastatic breast cancer: its regulation and implications in diagnosis, prognosis and therapeutics. **Current cancer drug targets**, v. 19, n. 2, p. 82-100, 2019.

[159] YAMAUCHI, Hideko; TAKEI, Junko. Management of hereditary breast and ovarian cancer. **International journal of clinical oncology**, v. 23, n. 1, p. 45-51, 2018.

[160] YIN, Hao *et al*. Non-viral vectors for gene-based therapy. **Nature reviews genetics**, v. 15, n. 8, p. 541-555, 2014.

[161] YOSHIDA, Kiyotsugu; MIKI, Yoshio. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. **Cancer science**, v. 95, n. 11, p. 866-871, 2004.

[162] ZHANG, Bifeng *et al*. Evidence for an ancient BRCA1 mutation in breast cancer patients of Yoruban ancestry. **Familial cancer**, v. 8, p. 15-22, 2009.

Capítulo 2

O papel de genes, proteínas e antígenos na progressão e diagnóstico do melanoma cutâneo: uma revisão sistemática sobre biomarcadores

Lucas Guilherme Stringari
Silvano Piovan

Resumo: Este estudo é uma revisão sistemática que examina os principais biomarcadores genéticos associados ao melanoma, com foco em suas funções e impacto no desenvolvimento, progressão e prognóstico da doença. Genes como BRAF, NRAS, KIT e KRAS estão entre os mais estudados, pois mutações neles promovem desregulação nas vias de sinalização celular e resistência à apoptose, contribuindo para o crescimento tumoral. Outros genes, como MAGE-A3, FOXP3 e SOX10, favorecem a formação de um microambiente imunossupressor, facilitando a evasão do sistema imune e a metástase. Biomarcadores como S100B e ctDNA têm sido apontados como importantes para o diagnóstico precoce e acompanhamento prognóstico, possibilitando uma intervenção terapêutica mais personalizada. O estudo também explora proteínas e antígenos como HMB45 e CD133, que estão ligados ao aumento da invasividade e potencial metastático das células malignas. A análise destaca que o avanço no entendimento molecular do melanoma permite identificar alvos terapêuticos potenciais, promovendo abordagens de tratamento mais eficazes. A utilização desses biomarcadores na prática clínica pode melhorar a precisão diagnóstica e otimizar as estratégias de tratamento, oferecendo aos pacientes um prognóstico mais favorável. Conclui-se que a pesquisa contínua sobre biomarcadores genéticos e proteicos no melanoma é essencial para o desenvolvimento de terapias direcionadas, que visem especificamente as alterações moleculares que impulsionam a progressão do câncer.

Palavras-chave: Melanoma, biomarcadores, tumor, genes mutados e proteínas mutadas.

1. INTRODUÇÃO

O melanoma cutâneo é um dos tipos de câncer de pele mais agressivo e mortal que acomete os seres humanos (Teixido *et al*., 2021), o mesmo é uma alteração celular cancerígena que acomete os melanócitos (Yu e Long 2017), sendo essa doença um dos tipos de câncer que mais apresenta caráter metastático, isso ocorre, pois, a população celular acometida por mutações do tipo melanoma possui um potencial aumentado de sofrer metástase quando comparado com outras neoplasias (Tímár e Ladányi 2022).

O melanoma também é uma das neoplasias que mais apresenta mutações genéticas no seu desenvolvimento, e isso ocorre geralmente por mutações causadas pela radiação ultravioleta (UV) (Davis *et al*., 2018) o continuo aumento das alterações climáticas e danos à camada de ozônio, são um dos principais fatores que elevaram a exposição da população mundial à radiação UV, contribuindo para o aumento dos casos de melanoma ao redor do mundo e principalmente na Europa (Tímár e Ladányi 2022).

No Brasil o melanoma representa aproximadamente 0,15% de todas as neoplasias malignas e os diagnósticos dessa doença continuam a aumentar, segundo estudos apenas 12% dos pacientes acometidos por melanoma metastático tem uma sobrevida maior que de cinco anos. (Figueiredo *et al*., 2003)

Diferente de outros tipos de neoplasias, o melanoma atinge principalmente pacientes de uma população mais jovem ou idade média (Teixido *et al*., 2021), embora possua uma menor incidência acometendo um a cada 10 pacientes com tumores ou câncer de pele, a doença é extremamente letal e possui um alto potencial de evolução para metástase quando comparado a outros tipos de câncer de pele (Yu e Long 2017).

Outro fator de risco que colabora para essa malignidade do melanoma são as alterações genéticas derivadas de genes mutados, genes como BRAF, NRAS e TP53 são exemplos de genes que estão frequentemente mutados no câncer, essas mutações são quase sempre associadas a transformações de lesões leves em melanoma e posteriormente em processos metastáticos (Elder *et al*., 2020).

Atualmente o padrão ouro para o diagnóstico do melanoma é o diagnostico histopatológico, em associação com as características clinicas apresentadas pelo paciente (Elder *et al*., 2020).

Tendo esses fatores como princípio, esta revisão sistemática buscou elucidar a função dos principais biomarcadores como, os genes, as proteínas e os demais antígenos na colaboração para a manutenção do melanoma e sua malignidade, de forma que deixe explicito as alterações, os métodos de coleta e o estadiamento da doença.

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa qualitativa, exploratória na forma de uma revisão sistemática com protocolo do estudo que registrado no site da *National Library of Medicine*, seguindo as diretrizes e protocolos do *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols (*PRISMA-P).

2.1. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram considerados trabalhos publicados em inglês ou português, que atendam aos objetivos da pesquisa e que tenham sido publicados entre os anos de 1998 a 2024. Para evitar a seleção de estudos irrelevantes para a pesquisa, foram excluídos os artigos duplicados e artigos considerados irrelevantes para a pesquisa após a leitura completa.

2.2. ESTRATÉGIA DE BUSCA

O levantamento bibliográfico de artigos foi realizado nas plataformas de pesquisa: Google Scholar, PubMed, Scopus, SciELO e ScienceDirect, onde foram selecionados inicialmente 16 artigos de acesso gratuito, em língua inglesa, publicados entre 1998 e 2024. A pesquisa foi realizada no dia 19 de agosto de 2024.

A partir das palavras-chaves, foram elaborados os termos de pesquisa. Esses termos incluem máscaras (*) para incluir variações (de gênero e de quantidade) e operadores lógicos para restringir (AND) ou ampliar (OR) o escopo. Desta forma, foram elaborados os seguintes termos de busca: "Melanoma" AND "Biomarkers, Tumor" AND "Genes".

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os dezesseis artigos selecionados para esse estudo (Tabela 1), foi observado que em onze deles, os pacientes escolhidos para os estudos possuíam melanoma de estágio três, estágio quatro ou ainda um estágio avançado da doença. Em dois dos artigos os autores utilizaram pacientes que fizeram ou estavam em tratamento de melanoma, onde os mesmos realizaram testes previamente e após o tratamento a fim de avaliar a eficácia do medicamento. Em outros dois artigos, os autores utilizaram pacientes com a retirada do tumor e retirada de neuroblastoma de estágio quatro. Todos os autores tiveram como requisito para a pesquisa que os pacientes participantes possuíssem idade superior a dezoito anos. Todos os autores citam alterações de genes com mutações que favorecem o desenvolvimento do melanoma.

Diante disso, a partir desse levantamento, foram listados os principais biomarcadores como, genes mutados e antígenos tumorais que são expressos no melanoma, além da demonstração do estadiamento da doença e os métodos utilizados para a detecção desses genes e antígenos.

Tabela 1. Descrição dos trabalhos incluídos de acordo com biomarcadores expressos em melanomas.

Autores	Biomarcadores	Genes mutados	Antígenos tumorais	Coleta do material	Estágio da doença	Pacientes testados	Método
Hamid *et al.*, (2011)	HER-2, KRAS	BRAF, KIT, FOXP3, IDO		Biópsia pré e pós trat. (FFPE)	Melanoma avançado	82 pacientes	Microarray de mRNA
Forschner *et al.*, (2019)	ctDNA	BRAF, NRAS, KRAS.		Tubo EDTA	Tratamento	35 pacientes	PCR
Wilson *et al.*, (2014)		BRAF, NRAS		(FFPE)	Melanoma com metástase	179 pacientes	PCR
Yang *et al.*, (2020)		MLANA, SOX10, MITF S100A/B	GD2	(FFPE)	Estágio 3 e 4 de melanoma	23 pacientes	RNA-Seq analysis
Ulloa-Montoya *et al.*, (2013)		JAK-2, CCL-5 (quimiocina), MAGE-A3		Biopsia de melanoma	Melanoma em estado inicial de metástase	157 pacientes	qRT-PCR microarray
Redmer *et al.*, (2014)		CD271, SOX10, FOXD3	CD133 HMB45e MART-1	(FFPE)	Tumores retirados de pacientes	(20) 16 amostras aptas de paciente	qPCR, Western blot
Dizier *et al.*, (2020)		TAP1, CCL5, GBP5, MAGE-A3		(FFPE)	Estágio 1, 2 e 3	356 pacientes	RT-PCR
Gangadhar (2018)		BRAF V600E, NRAS, Q61, KIT		Plasma, (tubo DNA BCT)	Estágio 3 e 4	(28-3 exclui.)25 pacientes	PCR-BASED (UDP)
Saenger *et al.*, (2014)		IRAK3, CTSD, PLA2G7, TXNRD1		PAXgene Blood RNA tubes	Melanoma irreversível	218 training-260 test. pacientes	RT-PCR
Cavalieri*et al.*, (2018)		TP53, NOTCH1, HER4, KMT2C/D, FAT1, BRAF, NRAS, HRAS		(FFPE)	Pacientes já tratados anteriormente e em tratamento no projeto	42 pacientes	PCR
Busse *et al.*, (2013)		SOCS3,HMBS, SOCS1	STAT	Tubo EDTA	Estágio 3, melanoma	91 pacientes	RT-PCR Quantitativo.
Włodzimierz *et al.*, (2004)		MART-1/Melan-A, Tirosinase	p97	drenagem linfática pós-oper.	Estagio 3	93 pacientes	RT-PCR
Shahabi *et al.*, (2013)		CD177, CEACAM1		Sangue perif. PAXgene Blood RNA MDX kit	Estágio avançado (3 e 4)	162 pacientes	qPCR
Friedlander *et al.*, (2017)		LARGE, NRAS, MYC		Sangue perif. (PAXgene tubes)	Estágio 3 e 4	210 pacientes naive	qPCR
Cheung *et al.*, 1998)		Gene MAGE	GAGE, MAGE-proteínas	Tumor neuroblastoma	Neuroblastoma, estágio 4	67 pacientes	RT-PCR

Fonte: autoria própria

Para entender o papel dos genes associados ao melanoma, é essencial destacar os mais estudados pela literatura, entre eles BRAF, NRAS, KIT, KRAS e MART-1/MELAN-A. Estes genes desempenham funções fundamentais no desenvolvimento de cânceres, incluindo o melanoma, com o gene BRAF sendo especialmente notável. Esse gene é responsável pela produção de uma proteína homônima que atua na via de ativação das proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPQuinase ou MAPK). Em sua forma mutada, o BRAF desregula fatores críticos para o crescimento, diferenciação, proliferação e apoptose celular, como apontado por Ottaviano *et al*., (2021).

Outro gene relevante é o MELAN-A, também conhecido como melanoma antigen recognized by T cells (MART-1). Esse gene, quando mutado, está diretamente associado a mutações nos melanócitos, embora sua função completa no desenvolvimento do melanoma ainda não esteja totalmente esclarecida. Estudos indicam que sua expressão em melanócitos normais sugere um papel na síntese de melanina, conforme observado por Kawakami, Robbins e Rosenberg (1996).

Além dos genes BRAF e MELAN-A, mutações nos genes KRAS, NRAS e KIT também são frequentemente citadas. Estes genes têm alta incidência em casos de melanoma cutâneo, com o gene KIT sendo particularmente associado a diferentes tipos de câncer, como leucemia de mastócitos e seminomas. Experimentos em melanócitos murinos demonstram que, quando mutado, o KIT exibe efeitos predominantemente mutagênicos, segundo Torres-Cabala *et al*., (2009).

Os genes NRAS e KRAS, que fazem parte da família RAS, são comumente mutados em cânceres e, ao sofrerem mutação, interrompem o ciclo da guanina. Isso bloqueia o gene RAS no estado ativo, desencadeando sinalizações que promovem o crescimento tumoral, como descrito por Moore *et al*., (2020). Em relação ao melanoma, as mutações BRAF V600E e NRAS Q61 são bem documentadas, estando associadas a um crescimento celular descontrolado e alta positividade em pacientes com melanoma cutâneo (Dankort *et al*., 2009; Vujic *et al*., 2014).

A mutação do gene MAGE-A3 também é de importância prognóstica, pois está ligada à progressão tumoral e à resistência aos quimioterápicos. Sua expressão é encontrada em melanomas e carcinomas gastrointestinais, sendo normal apenas no tecido testicular, segundo Sadanaga (2001). Outros genes, como o CCL5, CD271, FOXP3, e IDO, também participam de mecanismos que facilitam a progressão do câncer, seja promovendo imunossupressão, resistência a tratamentos ou contribuindo para a proliferação e migração tumoral (Aldinucci, Borghese e Casagrande, 2020; Vidal e Redmer, 2020; Hamid *et al*., 2011).

A perda de função do gene FOXD3 e a mutação do fator de transcrição SOX10 exemplificam alterações genéticas que induzem características malignas aos melanócitos, promovendo diferenciação e proliferação anormais (Kubic *et al*., 2016; Rosenbaum *et al*., 2024). Da mesma forma, genes como MITF, S100A1, e S100B também impactam a sobrevivência das células cancerígenas e se correlacionam com a progressão do tumor e metástase (Gelmi *et al*., 2022; Wang *et al*., 2021; Olaoba *et al*., 2020).

Por outro lado, genes como JAK-2, TAP1, IRAK3 e CTSD desempenham papéis específicos que comprometem a resposta imunológica ao melanoma e favorecem a progressão tumoral. Mutações nesses genes são associadas à resistência a terapias antitumorais e à proliferação de células cancerígenas, de acordo com Shin *et al*. (2017) e Saenger *et al*. (2014). Genes como TP53 e NOTCH1, conhecidos por seu impacto em vários

tipos de câncer, também promovem características agressivas no melanoma, incluindo metástase e resistência a tratamentos (Shi *et al*., 2023; Javaid & Usmani, 2024).

Os genes HER2, HER3 e HER4, membros da subfamília ERBB, demonstram impacto direto na invasão e migração de células tumorais. A superexpressão desses genes em melanomas está associada à angiogênese tumoral e à inibição da apoptose celular, segundo Liu *et al*. (2021). Outras mutações notáveis, como aquelas nos genes FAT1, SOCS3, SOCS1, CEACAM1 e PLA2G7, continuam a mostrar correlação com o prognóstico desfavorável em pacientes com melanoma (Pastushenko *et al*., 2021; Li *et al*., 2023; Yu & Long, 2017; Hertrich & Singer, 2019).

Entre biomarcadores de diagnóstico e prognóstico, proteínas como a Tirosinase, MYC, GD2, CD133, HMB45 e gp100 são identificadas em processos tumorais no melanoma e estão associadas à agressividade e à progressão do câncer, sendo algumas usadas para monitorar o curso da doença. Finalmente, o ctDNA, fragmento de DNA de células tumorais, é um marcador importante para detecção precoce da progressão do melanoma, conforme mencionado por Syeda *et al*. (2021).

4. CONCLUSÃO

Em conclusão, as mutações em genes específicos estão intimamente associadas ao desenvolvimento e progressão do melanoma e de outros tipos de cânceres. Genes como BRAF, NRAS, KIT e outros possuem um papel crucial na regulação de vias de sinalização celular, controle do ciclo celular e apoptose, e suas mutações frequentemente resultam em crescimento tumoral descontrolado e resistência a terapias. Além desses, genes como MAGE-A3, FOXP3 e SOX10 contribuem para a criação de um microambiente tumoral favorável à sobrevivência das células cancerígenas, intensificando a imunossupressão e promovendo a metástase.

Biomarcadores como o S100B e ctDNA emergem como ferramentas relevantes no diagnóstico precoce e na monitorização do prognóstico, permitindo uma abordagem mais personalizada no tratamento de pacientes com melanoma. A compreensão das interações e mutações genéticas no melanoma não só ilumina o complexo cenário molecular da doença, mas também abre caminhos para o desenvolvimento de terapias direcionadas, que visam interromper essas vias de sinalização e melhorar a eficácia dos tratamentos atuais. Esse entendimento ressalta a importância das pesquisas contínuas para identificar novos alvos moleculares e aprimorar estratégias de combate ao câncer, contribuindo para um prognóstico mais favorável e maior expectativa de vida para os pacientes.

REFERÊNCIAS

[1] Aldinucci, D., Borghese, C., & Casagrande, N. (2020). The CCL5/CCR5 Axis in Cancer Progression. *Cancers*, *12*(7), 1765.https://doi.org/10.3390/cancers12071765

[2] Bazhin, A. V., Wiedemann, N., Schnölzer, M., Schadendorf, D., & Eichmüller, S. B. (2007). Expression of GAGE family proteins in malignant melanoma. *Cancer letters*, *251*(2), 258–267. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.11.022

[3] Bolovan, L. M., Ceausu, M., Stanciu, A. E., Panait, M. E., Busca, A., Hotnog, C. M., Bleotu, C., Gales, L. N., Georgescu, M. T., Prunoiu, V. M., Brasoveanu, L. I., & Voinea, S. C. (2023). Correlation Studies between S100 Protein Level and Soluble MIA or Tissue MelanA and gp100 (HMB45) Expression in Cutaneous Melanoma. *Journal of personalized medicine*, *13*(6), 898. https://doi.org/10.3390/jpm13060898

[4] Busse, A., Rapion, J., Fusi, A., Suciu, S., Nonnenmacher, A., Santinami, M., Kruit, W. H., Testori, A., Punt, C. J., Dalgleish, A. G., Spatz, A., Eggermont, A. M., & Keilholz, U. (2013). Analysis of surrogate gene expression markers in peripheral blood of melanoma patients to predict treatment outcome of adjuvant pegylated interferon alpha 2b (EORTC 18991 side study). *Cancer immunology, immunotherapy : CII*, *62*(7), 1223–1233. https://doi.org/10.1007/s00262-013-1428-4

[5] Cavalieri, S., Perrone, F., Miceli, R., Ascierto, P. A., Locati, L. D., Bergamini, C., Granata, R., Alfieri, S., Resteghini, C., Galbiati, D., Busico, A., Paielli, N., Patuzzo, R., Maurichi, A., Gallino, G., Ruggeri, R., Mariani, L., Palla, M., Licitra, L., & Bossi, P. (2018). Efficacy and safety of single-agent pan-human epidermal growth factor receptor (HER) inhibitor dacomitinib in locally advanced unresectable or metastatic skin squamous cell cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, *97*, 7–15. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.04.004

[6] Chen, W., Cheng, P., Jiang, J., Ren, Y., Wu, D., & Xue, D. (2020). Epigenomic and genomic analysis of transcriptome modulation in skin cutaneous melanoma. *Aging*, *12*(13), 12703–12725. https://doi.org/10.18632/aging.103115

[7] Cheung, I. Y., Barber, D., & Cheung, N. K. (1998). Detection of microscopic neuroblastoma in marrow by histology, immunocytology, and reverse transcription-PCR of multiple molecular markers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *4*(11), 2801–2805.

[8] Cioplea, M., Nichita, L., Georgescu, D., Sticlaru, L., Cioroianu, A., Nedelcu, R., Turcu, G., Rauta, A., Mogodici, C., Zurac, S., & Popp, C. (2020). FOXP3 in Melanoma with Regression: Between Tumoral Expression and Regulatory T Cell Upregulation. *Journal of immunology research*, *2020*, 5416843. https://doi.org/10.1155/2020/5416843

[9] Costantini, S., Capone, F., Polo, A., Bagnara, P., & Budillon, A. (2021). Valosin-Containing Protein (VCP)/p97: A Prognostic Biomarker and Therapeutic Target in Cancer. *International journal of molecular sciences*, *22*(18), 10177. https://doi.org/10.3390/ijms221810177

[10] Dankort, D., Curley, D. P., Cartlidge, R. A., Nelson, B., Karnezis, A. N., Damsky, W. E., Jr, You, M. J., DePinho, R. A., McMahon, M., & Bosenberg, M. (2009). Braf(V600E) cooperates with Pten loss to induce metastatic melanoma. *Nature genetics*, *41*(5), 544–552. https://doi.org/10.1038/ng.356

[11] Davis, E. J., Johnson, D. B., Sosman, J. A., & Chandra, S. (2018). Melanoma: What do all the mutations mean?. *Cancer*, *124*(17), 3490–3499. https://doi.org/10.1002/cncr.31345

[12] Dizier, B., Callegaro, A., Debois, M., Dreno, B., Hersey, P., Gogas, H. J., Kirkwood, J. M., Vansteenkiste, J. F., Sequist, L. V., Atanackovic, D., Goeman, J., van Houwelingen, H., Salceda, S., Wang, F., Therasse, P., Debruyne, C., Spiessens, B., Brichard, V. G., Louahed, J., & Ulloa-Montoya, F. (2020). A Th1/IFNγ Gene Signature Is Prognostic in the Adjuvant Setting of Resectable High-Risk Melanoma but Not in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *26*(7), 1725–1735. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3717

[13] Dos Santos, M. F. S. M., & Fonseca, M. G. Estudo comparativo das técnicas de pcr e captura híbrida para o diagnóstico do hpv: revisão de literatura. *Revista Atualiza Saúde*, *59*.

[14] Du, J., Miller, A. J., Widlund, H. R., Horstmann, M. A., Ramaswamy, S., & Fisher, D. E. (2003). MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma. *The American journal of pathology*, *163*(1), 333–343. https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63657-7

[15] Elder, D. E., Bastian, B. C., Cree, I. A., Massi, D., & Scolyer, R. A. (2020). The 2018 World Health Organization Classification of Cutaneous, Mucosal, and Uveal Melanoma: Detailed Analysis of 9 Distinct Subtypes Defined by Their Evolutionary Pathway. *Archives of pathology & laboratory medicine*, *144*(4), 500–522. https://doi.org/10.5858/arpa.2019-0561-RA

[16] Fagan, R. J., & Dingwall, A. K. (2019). COMPASS Ascending: Emerging clues regarding the roles of MLL3/KMT2C and MLL2/KMT2D proteins in cancer. *Cancer letters*, *458*, 56–65. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.05.024

[17] Figueiredo, L. C., Cordeiro, L. N., Arruda, A. P., Carvalho, M. D. F., Ribeiro, E. M., & Coutinho, H. D. M. (2003). Câncer de pele: estudo dos principais marcadores moleculares do melanoma cutâneo. *Revista Brasileira de Cancerologia*, *49*(3), 179-183.

[18] Forschner, A., Battke, F., Hadaschik, D., Schulze, M., Weißgraeber, S., Han, C. T., Kopp, M., Frick, M., Klumpp, B., Tietze, N., Amaral, T., Martus, P., Sinnberg, T., Eigentler, T., Keim, U., Garbe, C., Döcker, D., & Biskup, S. (2019). Tumor mutation burden and circulating tumor DNA in combined CTLA-4 and PD-1 antibody therapy in metastatic melanoma - results of a prospective biomarker study. *Journal for immunotherapy of cancer*, *7*(1), 180. https://doi.org/10.1186/s40425-019-0659-0

[19] Friedlander, P., Wassmann, K., Christenfeld, A. M., Fisher, D., Kyi, C., Kirkwood, J. M., Bhardwaj, N., & Oh, W. K. (2017). Whole-blood RNA transcript-based models can predict clinical response in two large independent clinical studies of patients with advanced melanoma treated with the checkpoint inhibitor, tremelimumab. *Journal for immunotherapy of cancer*, *5*(1), 67. https://doi.org/10.1186/s40425-017-0272-z

[20] Gangadhar, T. C., Savitch, S. L., Yee, S. S., Xu, W., Huang, A. C., Harmon, S., Lieberman, D. B., Soucier, D., Fan, R., Black, T. A., Morrissette, J. J. D., Salathia, N., Waters, J., Zhang, S., Toung, J., van Hummelen, P., Fan, J. B., Xu, X., Amaravadi, R. K., Schuchter, L. M., … Carpenter, E. L. (2018). Feasibility of monitoring advanced melanoma patients using cell-free DNA from plasma. *Pigment cell & melanoma research*, *31*(1), 73–81. https://doi.org/10.1111/pcmr.12623

[21] Gelmi, M. C., Houtzagers, L. E., Strub, T., Krossa, I., & Jager, M. J. (2022). MITF in Normal Melanocytes, Cutaneous and Uveal Melanoma: A Delicate Balance. *International journal of molecular sciences*, *23*(11), 6001. https://doi.org/10.3390/ijms23116001

[22] Gomez, G. V. B., Lourenço, G. J., Monteiro, L. M. O., Rocha, R. S., Fernández, K. A. M., Recio, J. A., Torricelli, C., Coser, L. O., Oliveira, A. L. R., Carron, J., Moraes, A. M., & Lima, C. S. P. (2022). Association of JAK/STAT genetic variants with cutaneous melanoma. *Frontiers in oncology*, *12*, 943483. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.943483

[23] Hamid, O., Schmidt, H., Nissan, A., Ridolfi, L., Aamdal, S., Hansson, J., Guida, M., Hyams, D. M., Gómez, H., Bastholt, L., Chasalow, S. D., & Berman, D. (2011). A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *Journal of translational medicine*, *9*, 204. https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-204

[24] Helfrich, I., & Singer, B. B. (2019). Size Matters: The Functional Role of the CEACAM1 Isoform Signature and Its Impact for NK Cell-Mediated Killing in Melanoma. *Cancers*, *11*(3), 356. https://doi.org/10.3390/cancers11030356

[25] Hussein M. R. A. (2022). HMB45 protein expression and the immunohistochemical maturation in common blue nevi: a reappraisal. *Anais brasileiros de dermatologia*, *97*(3), 387–390. https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.12.013

[26] Javaid, Q., & Usmani, A. (2024). Role of Mutation of NOTCH1 gene in development of oral squamous cell carcinoma: a narrative review. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, *74*(4), 762–768. https://doi.org/10.47391/JPMA.9261

[27] Jin, J., Liu, B. Z., & Wu, Z. M. (2015). Evaluation of melanoma antigen gene A3 expression in drug resistance of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in advanced nonsmall cell lung cancer treatment. *Journal of cancer research and therapeutics*, *11 Suppl*, C271–C274. https://doi.org/10.4103/0973-1482.170549

[28] Kawakami, Y., Robbins, P. F., & Rosenberg, S. A. (1996). Human melanoma antigens recognized by T lymphocytes. *The Keio journal of medicine*, *45*(2), 100–108. https://doi.org/10.2302/kjm.45.100

[29] Kim, M. C., Borcherding, N., Ahmed, K. K., Voigt, A. P., Vishwakarma, A., Kolb, R., Kluz, P. N., Pandey, G., De, U., Drashansky, T., Helm, E. Y., Zhang, X., Gibson-Corley, K. N., Klesney-Tait, J., Zhu, Y., Lu, J., Lu, J., Huang, X., Xiang, H., Cheng, J., … Zhang, W. (2021). CD177 modulates the function and homeostasis of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Nature communications*, *12*(1), 5764. https://doi.org/10.1038/s41467-021-26091-4

[30] Kubic, J. D., Little, E. C., Kaiser, R. S., Young, K. P., & Lang, D. (2016). FOXD3 Promotes PAX3 Expression in Melanoma Cells. *Journal of cellular biochemistry*, *117*(2), 533–541. https://doi.org/10.1002/jcb.25306

[31] Liu, S., Geng, R., Lin, E., Zhao, P., & Chen, Y. (2021). ERBB1/2/3 Expression, Prognosis, and Immune Infiltration in Cutaneous Melanoma. *Frontiers in genetics*, *12*, 602160. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.602160

[32] Li, X., He, L., Ou, Y., Wang, S., Hu, Y., & Niu, H. (2023). Oxymatrine inhibits melanoma development by modulating the immune microenvironment and targeting the MYC/PD-L1 pathway. *International immunopharmacology*, *124*(Pt B), 111000. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.111000

[33] Li, X., Yang, Z., Chen, B., Gu, L., Tian, G., & Sui, X. (2023). SOCS3 as a potential driver of lung metastasis in colon cancer patients. *Frontiers in immunology*, *14*, 1088542. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1088542

[34] Madjd, Z., Erfani, E., Gheytanchi, E., Moradi-Lakeh, M., Shariftabrizi, A., & Asadi-Lari, M. (2016). Expression of CD133 cancer stem cell marker in melanoma: a systematic review and meta-analysis. *The International journal of biological markers*, *31*(2), e118–e125. https://doi.org/10.5301/jbm.5000209

[35] Moore, A. R., Rosenberg, S. C., McCormick, F., & Malek, S. (2020). RAS-targeted therapies: is the undruggable drugged?. *Nature reviews. Drug discovery*, *19*(8), 533–552. https://doi.org/10.1038/s41573-020-0068-6

[36] Morgan, R. A., Chinnasamy, N., Abate-Daga, D., Gros, A., Robbins, P. F., Zheng, Z., Dudley, M. E., Feldman, S. A., Yang, J. C., Sherry, R. M., Phan, G. Q., Hughes, M. S., Kammula, U. S., Miller, A. D., Hessman, C. J., Stewart, A. A., Restifo, N. P., Quezado, M. M., Alimchandani, M., Rosenberg, A. Z., … Rosenberg, S. A. (2013). Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)*, *36*(2), 133–151. https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3182829903

[37] MORGANTE, C., BLAWID, R., & BLAWID, R. (2016). Análise da expressão gênica pela técnica de PCR quantitativa em tempo real: princípios e fundamentos.

[38] Nazha, B., Inal, C., & Owonikoko, T. K. (2020). Disialoganglioside GD2 Expression in Solid Tumors and Role as a Target for Cancer Therapy. *Frontiers in oncology*, *10*, 1000. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01000

[39] Olaoba, O. T., Kadasah, S., Vetter, S. W., & Leclerc, E. (2020). RAGE Signaling in Melanoma Tumors. *International journal of molecular sciences*, *21*(23), 8989. https://doi.org/10.3390/ijms21238989

[40] Ottaviano, M., Giunta, E. F., Tortora, M., Curvietto, M., Attademo, L., Bosso, D., Cardalesi, C., Rosanova, M., De Placido, P., Pietroluongo, E., Riccio, V., Mucci, B., Parola, S., Vitale, M. G., Palmieri, G., Daniele, B., Simeone, E., & On Behalf Of Scito Youth (2021). BRAF Gene and Melanoma: Back to the Future. *International journal of molecular sciences*, *22*(7), 3474. https://doi.org/10.3390/ijms22073474

[41] Pastushenko, I., Mauri, F., Song, Y., de Cock, F., Meeusen, B., Swedlund, B., Impens, F., Van Haver, D., Opitz, M., Thery, M., Bareche, Y., Lapouge, G., Vermeersch, M., Van Eycke, Y. R., Balsat, C., Decaestecker, C., Sokolow, Y., Hassid, S., Perez-Bustillo, A., Agreda-Moreno, B., … Blanpain, C. (2021). Fat1 deletion promotes hybrid EMT state, tumour stemness and metastasis. *Nature*, *589*(7842), 448–455. https://doi.org/10.1038/s41586-020-03046-1

[42] Redmer, T., Welte, Y., Behrens, D., Fichtner, I., Przybilla, D., Wruck, W., Yaspo, M. L., Lehrach, H., Schäfer, R., & Regenbrecht, C. R. (2014). The nerve growth factor receptor CD271 is crucial to maintain tumorigenicity and stem-like properties of melanoma cells. *PloS one*, *9*(5), e92596. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092596

[43] Rosa, G. J. de M., Rocha, L. B. da ., & Furlan, L. R.. (2007). Estudos de expressão gênica utilizando-se microarrays: delineamento, análise, e aplicações na pesquisa zootécnica. *Revista Brasileira De Zootecnia*, *36*, 186–209. https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000018

[44] Rosenbaum, S. R., Caksa, S., Stefanski, C. D., Trachtenberg, I. V., Wilson, H. P., Wilski, N. A., Ott, C. A., Purwin, T. J., Haj, J. I., Pomante, D., Kotas, D., Chervoneva, I., Capparelli, C., & Aplin, A. E. (2024). SOX10 Loss Sensitizes Melanoma Cells to Cytokine-Mediated Inflammatory Cell Death. *Molecular cancer research : MCR*, *22*(2), 209–220. https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0290

[45] Sabatier, P., Beusch, C. M., Gencheva, R., Cheng, Q., Zubarev, R., & Arnér, E. S. J. (2021). Comprehensive chemical proteomics analyses reveal that the new TRi-1 and TRi-2 compounds are more specific thioredoxin reductase 1 inhibitors than auranofin. *Redox biology*, *48*, 102184. Advance online publication. https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102184

[46] Sadanaga, N., Nagashima, H., Mashino, K., Tahara, K., Yamaguchi, H., Ohta, M., Fujie, T., Tanaka, F., Inoue, H., Takesako, K., Akiyoshi, T., & Mori, M. (2001). Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a

novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *7*(8), 2277–2284.

[47] Saenger, Y., Magidson, J., Liaw, B., de Moll, E., Harcharik, S., Fu, Y., Wassmann, K., Fisher, D., Kirkwood, J., Oh, W. K., & Friedlander, P. (2014). Blood mRNA expression profiling predicts survival in patients treated with tremelimumab. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *20*(12), 3310–3318. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-2906

[48] Shahabi, V., Berman, D., Chasalow, S. D., Wang, L., Tsuchihashi, Z., Hu, B., Panting, L., Jure-Kunkel, M., & Ji, R. R. (2013). Gene expression profiling of whole blood in ipilimumab-treated patients for identification of potential biomarkers of immune-related gastrointestinal adverse events. *Journal of translational medicine*, *11*, 75. https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-75

[49] Shi, Y., Ren, X., Cao, S., Chen, X., Yuan, B., Brasil da Costa, F. H., Rodriguez Rosario, A. E., Corona, A., Michikawa, C., Veeramachaneni, R., Osman, A. A., Xie, T., Wang, W., Sikora, A. G., Myers, J. N., & Rangel, R. (2023). *TP53* gain-of-function mutation modulates the immunosuppressive microenvironment in non-HPV-associated oral squamous cell carcinoma. *Journal for immunotherapy of cancer*, *11*(8), e006666. https://doi.org/10.1136/jitc-2023-006666

[50] Shin, D. S., Zaretsky, J. M., Escuin-Ordinas, H., Garcia-Diaz, A., Hu-Lieskovan, S., Kalbasi, A., Grasso, C. S., Hugo, W., Sandoval, S., Torrejon, D. Y., Palaskas, N., Rodriguez, G. A., Parisi, G., Azhdam, A., Chmielowski, B., Cherry, G., Seja, E., Berent-Maoz, B., Shintaku, I. P., Le, D. T., … Ribas, A. (2017). Primary Resistance to PD-1 Blockade Mediated by JAK1/2 Mutations. *Cancer discovery*, *7*(2), 188–201. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1223

[51] Steiert, T. A., Parra, G., Gut, M., Arnold, N., Trotta, J. R., Tonda, R., Moussy, A., Gerber, Z., Abuja, P. M., Zatloukal, K., Röcken, C., Folseraas, T., Grimsrud, M. M., Vogel, A., Goeppert, B., Roessler, S., Hinz, S., Schafmayer, C., Rosenstiel, P., Deleuze, J. F., … Forster, M. (2023). A critical spotlight on the paradigms of FFPE-DNA sequencing. *Nucleic acids research*, *51*(14), 7143–7162. https://doi.org/10.1093/nar/gkad519

[52] Syeda, M. M., Wiggins, J. M., Corless, B. C., Long, G. V., Flaherty, K. T., Schadendorf, D., Nathan, P. D., Robert, C., Ribas, A., Davies, M. A., Grob, J. J., Gasal, E., Squires, M., Marker, M., Garrett, J., Brase, J. C., & Polsky, D. (2021). Circulating tumour DNA in patients with advanced melanoma treated with dabrafenib or dabrafenib plus trametinib: a clinical validation study. *The Lancet. Oncology*, *22*(3), 370–380. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30726-9

[53] Teixido, C., Castillo, P., Martinez-Vila, C., Arance, A., & Alos, L. (2021). Molecular Markers and Targets in Melanoma. *Cells*, *10*(9), 2320. https://doi.org/10.3390/cells10092320

[54] Tímár, J., & Ladányi, A. (2022). Molecular Pathology of Skin Melanoma: Epidemiology, Differential Diagnostics, Prognosis and Therapy Prediction. *International journal of molecular sciences*, *23*(10), 5384. https://doi.org/10.3390/ijms23105384

[55] Torres-Cabala, C. A., Wang, W. L., Trent, J., Yang, D., Chen, S., Galbincea, J., Kim, K. B., Woodman, S., Davies, M., Plaza, J. A., Nash, J. W., Prieto, V. G., Lazar, A. J., & Ivan, D. (2009). Correlation between KIT expression and KIT mutation in melanoma: a study of 173 cases with emphasis on the acral-lentiginous/mucosal type. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, *22*(11), 1446–1456. https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.116

[56] Ulloa-Montoya, F., Louahed, J., Dizier, B., Gruselle, O., Spiessens, B., Lehmann, F. F., Suciu, S., Kruit, W. H., Eggermont, A. M., Vansteenkiste, J., & Brichard, V. G. (2013). Predictive gene signature in MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *31*(19), 2388–2395. https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.3762

[57] Vidal, A., & Redmer, T. (2020). Decoding the Role of CD271 in Melanoma. *Cancers*, *12*(9), 2460. https://doi.org/10.3390/cancers12092460

[58] Vujic, I., Posch, C., Sanlorenzo, M., Yen, A. J., Tsumura, A., Kwong, A., Feichtenschlager, V., Lai, K., Arneson, D. V., Rappersberger, K., & Ortiz-Urda, S. M. (2014). Mutant NRASQ61 shares signaling similarities across various cancer types--potential implications for future therapies. *Oncotarget*, *5*(17), 7936–7944. https://doi.org/10.18632/oncotarget.2326

[59] Wang, G., Li, H. N., Cui, X. Q., Xu, T., Dong, M. L., Li, S. Y., & Li, X. R. (2021). S100A1 is a Potential Biomarker for Papillary Thyroid Carcinoma Diagnosis and Prognosis. *Journal of Cancer*, *12*(19), 5760–5771. https://doi.org/10.7150/jca.51855

[60] Wilson, M. A., Zhao, F., Letrero, R., D'Andrea, K., Rimm, D. L., Kirkwood, J. M., Kluger, H. M., Lee, S. J., Schuchter, L. M., Flaherty, K. T., & Nathanson, K. L. (2014). Correlation of somatic mutations and clinical outcome in melanoma patients treated with Carboplatin, Paclitaxel, and sorafenib. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *20*(12), 3328–3337. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0093

[61] Włodzimierz, R., Rutkowski, P., Nowecki, Z. I., Kulik, J., Nasierowska-Guttmejer, A., & Siedlecki, J. A. (2004). Detection of melanoma cells in the lymphatic drainage after lymph node dissection in melanoma patients by using two-marker reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *Annals of surgical oncology*, *11*(11), 988–997. https://doi.org/10.1245/ASO.2004.03.023

[62] Yang, R. K., Kuznetsov, I. B., Ranheim, E. A., Wei, J. S., Sindiri, S., Gryder, B. E., Gangalapudi, V., Song, Y. K., Patel, V., Hank, J. A., Zuleger, C., Erbe, A. K., Morris, Z. S., Quale, R., Kim, K., Albertini, M. R., Khan, J., & Sondel, P. M. (2020). Outcome-Related Signatures Identified by Whole Transcriptome Sequencing of Resectable Stage III/IV Melanoma Evaluated after Starting Hu14.18-IL2. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *26*(13), 3296–3306. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3294

[63] Yang, S. W., Huang, X., Lin, W., Min, J., Miller, D. J., Mayasundari, A., Rodrigues, P., Griffith, E. C., Gee, C. T., Li, L., Li, W., Lee, R. E., Rankovic, Z., Chen, T., & Potts, P. R. (2020). Structural basis for substrate recognition and chemical inhibition of oncogenic MAGE ubiquitin ligases. *Nature communications*, *11*(1), 4931. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18708-x

[64] Yu, S. J., & Long, Z. W. (2017). Effect of SOCS1 silencing on proliferation and apoptosis of melanoma cells: An in vivo and in vitro study. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, *39*(5), 1010428317694315. https://doi.org/10.1177/1010428317694315

[65] Zhang, S., Zhou, X., Yu, H., & Yu, Y. (2010). Expression of tumor-specific antigen MAGE, GAGE and BAGE in ovarian cancer tissues and cell lines. *BMC cancer*, *10*, 163. https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-163

[66] Zhu, H., Zhang, H., Xu, Y., Laššáková, S., Korabečná, M., & Neužil, P. (2020). PCR past, present and future. *BioTechniques*, *69*(4), 317–325. https://doi.org/10.2144/btn-2020-0057

[67] Zhu, R., Chen, Y. T., Wang, B. W., You, Y. Y., Wang, X. H., Xie, H. T., Jiang, F. G., & Zhang, M. C. (2023). TAP1, a potential immune-related prognosis biomarker with functional significance in uveal melanoma. *BMC cancer*, *23*(1), 146. https://doi.org/10.1186/s12885-023-10527-9

Capítulo 3

Os fatores genéticos e epigenéticos envolvidos no desenvolvimento do Transtorno do Espectro Autista: uma revisão sistemática

Marina Biavatti Zavarezzi
Karina Biavatti Zavarezzi
Silvano Piovan

Resumo: O Transtorno do Espectro Autista (TEA), um distúrbio do neurodesenvolvimento que envolve a interação social e a comunicação, apresentando comportamentos repetitivos e um amplo espectro de variações fenotípicas. Comorbidades, como epilepsia e distúrbios de fala, são comuns. Por ser multifatorial, tem como possíveis causas fatores ambientais e genéticos. A prevalência do TEA tem aumentado, atingindo 1 a 2% em várias condições, incentivando pesquisas sobre suas etiologias e melhorando diagnósticos e tratamentos. Tem-se como objetivo analisar e compilar as evidências existentes sobre os fatores genéticos e epigenéticos que foram indicados para o desenvolvimento do TEA com o intuito de entender como esses fatores influenciam a manifestação do transtorno. Trata-se de uma revisão sistemática, com o levantamento de dados utilizando os termos “AUTISMO” e "GENES” para artigos nos períodos de 2004 a 2024. Assim, observaram-se variações patogênicas, novas variantes em MBP, PCDHA1, PCDH15 e PDPR, que se associam a hiperatividade e atraso de fala. Variantes comuns em RBFOX1 e DLGAP2, associando-as com a ocitocina plasmática. Alterações em miR-335-3p e miR-30e-5p como potenciais marcadores diagnósticos. Deleções e duplicações cromossômicas associadas às funções mitocondriais. Destaca-se o gene NRG1, que pode relacionar-se à etiologia do TEA. Outros estudos, investigaram variações em RASD2 e novos genes candidatos. Evidenciaram correlações entre níveis de chumbo e desenvolvimento autista. Dados sobre deleções no gene MEF2C e suas implicações em tratamentos. Conclui-se assim, expandindo e atualizando a compreensão sobre a genética e epigenética do TEA, como também se abrem portas para novos estudos potenciais terapêuticos.

Palavras-chave: Autismo, genes, epigenética.

1. INTRODUÇÃO

O autismo é um transtorno de desenvolvimento caracterizado por apresentar um déficit em interações sociais, comunicativas, hábitos e predileções reincidentes e estereotipados. As divergências que ocorrem no desenvolvimento já se identificam nos primeiros 3 anos de vida e persistem ao longo da vida adulta (Brasil, 2021). Com uma frequência de até 5 vezes maior em homens do que mulheres, o Transtorno do espectro autista (TEA) pode estar associado a inaptidão intelectual em aproximadamente 31% dos pacientes (Frieden *et al*., 2010), sendo que de 20-25% desenvolvem convulsões (Canitano, 2007). Alguns sintomas rotineiros abrangem a desordem de ansiedade (White *et al*., 2009), alterações gastrointestinais (Valicenti-McDermott *et al*., 2006), de sono (Richdale e Schreck, 2009), reações anormais a estimulação sensorial (Rogers, Hepburn e Wehner, 2003).

Apesar de ser determinado por estes indícios recorrentes, o fenótipo dos portadores do TEA pode ser bastante diverso, incluindo, desde pacientes com quociente de inteligência (QI) normal até pacientes que possuem deficiência intelectual (DI) grave e um desempenho prejudicado em habilidades comportamentais (Zafeiriou, Ververi e Vargiami, 2007).

Podendo ser realizado antes da criança completar 3 anos, o diagnóstico do autismo é determinado por meio dos critérios estipulados pelo Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) ou pela Classificação Internacional de Doenças (CID) (Grant e Chamberlain, 2016).

O DSM-5 fornece diferentes níveis que condizem com a gravidade do transtorno, as classificando em: a) Nível 1 – na falta de suporte, há prejuízo social evidente, ocorre dificuldades para dar início a interações, por vezes demonstram pouco interesse nelas, tentativa de contato social falham e há problemas de organização, planejamento e certa rigidez comportamental; b) Nível 2 - requer um suporte significativo diante de prejuízos sociais evidentes, restrições para iniciar e sustentar interações, rigidez comportamental e dificuldades em lidar com mudanças; c) Nível 3 - requer um apoio substancial significativo, com déficits graves nas habilidades de comunicação social, falta de flexibilidade comportamental e grande dificuldade com mudanças. Consequentemente, quanto menor for o grau de comprometimento, melhor será o prognóstico do paciente (American Psychiatric Association, 2014).

Mesmo possuindo uma etiologia desconhecida, o TEA é considerado um transtorno multifatorial abrangendo fatores neurológicos, sociais e genéticos. Constata-se que a prevalência global do TEA esteja por volta de 70 casos para 10.000 habitantes, com uma proporção entre homens e mulheres de 4:1 (Volkmar e McPartland, 2014). No Brasil, por mais que exista uma quantia escassa de estudos epidemiológicos, estima-se que os índices de afetados pelo autismo são de aproximadamente 27,2 casos a cada 10.000 habitantes (Levenson, 2015).

Atualmente, muito se pesquisa e se estuda os genes que possuem alguma atuação na fisiopatologia do TEA e suas condições (Gupta *et al*,. 2006). Estudos realizados com gêmeos evidenciam uma herdabilidade de aproximadamente 64% a 91% (Sabin, 2023). É importante salientar, que se deriva conforme a comparação de grau identificado no diagnóstico partilhado entre gêmeos monozigóticos (MZ) e dizigótico (DZ). Devido ao DNA dos MZ serem idênticos e já os DZ possuírem a mesma proporção genética semelhante a irmão que não sejam gêmeos, a detecção de um valor de concordância que ocorre em pares MZ propõem que os genes realizam uma grande contribuição à etiologia

do TEA (Bailey *et al*., 1995). Os números obtidos nos casos de TEAs para concordância para o transtorno rigorosamente diagnosticado é de aproximadamente 60% em gêmeos MZ e 0% em gêmeos DZ. Em diagnósticos realizados para um espectro mais amplo, esses valores se aproximam de 92% e 10% suscetivelmente, o que indicam como um fator de risco o componente genético (Bailey *et al*., 1995).

Apesar de existirem evidências cada vez mais claras da hereditariedade do autismo, sua origem genética é complexa, hipoteticamente envolve diversos genes em variados cromossomos (Solís-añes *et al*., 2007). Segundo Trost *et al*. (2022) as alterações gênicas podem envolver modificações na sinalização sináptica, organização da cromatina, atividade co-reguladora da transcrição e regulação negativa da tradução.

Um estudo realizado no Canadá, com pesquisadores do Hospital for Sick Children, fez a análise do sequenciamento genético de mais de 7.000 indivíduos autistas e 13.000 familiares que não fazem parte do espectro. Foi encontrado pela equipe ao todo 134 genes que estão ligados ao autismo e foi identificado uma sequência de alterações genéticas e variações da quantidade de cópias dos genes, em aproximadamente 14% dos pacientes com autismo. O gene FOXP1, atualmente, é um dos mais relevantes para o TEA. O SYNGAP1 também ganhou mais importância quanto os genes ligados ao TEA, o CHD8 e o SCN2A. Os genes SHANK3, ASH1L, ADNP, também permaneceram na classe dos mais relevantes (Satterstrom, *et al*., 2020).

Diante das evidências sobre os fatores genéticos e a possível hereditariedade do autismo, essa revisão visa investigar as mais recentes publicações sobre esse tema, buscando avaliar a correlação entre as variantes genéticas e epigenéticas no desenvolvimento do TEA.

2. METODOLOGIA

2.1. PROTOCOLO DE REVISÃO

Tratou-se de uma pesquisa qualitativa, exploratória na forma de uma revisão sistemática com protocolo do estudo, o qual foi registrado no site da *National Library of Medicine* e seguiu-se as diretrizes e protocolos do *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols* (PRISMA-P).

2.2. BASES DE PESQUISA

O levantamento bibliográfico de artigos foi realizado nas plataformas de pesquisa: Google Scholar, PubMed e SciELO, onde foram selecionados inicialmente 24 artigos de acesso gratuito, em língua inglesa, publicados entre 2004 e 2024. A pesquisa foi realizada no dia 16 de agosto de 2024.

2.3. ESTRATÉGIAS DE BUSCA

A partir das palavras-chaves do projeto, foram elaborados os termos de pesquisa. Esses termos incluem máscaras (*) para incluir variações (de gênero e de quantidade) e operadores lógicos para restringir (AND) ou ampliar (OR) o escopo.

Desta forma, foram utilizados os seguintes termos de busca: "Autism" AND "genes". Foram selecionados artigos publicados entre os anos de 2019 e 2024, no idiomas

português e inglês.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir desse levantamento, foram listados os principais genes e fatores epigenéticos envolvidos no desenvolvimento do autismo, além das características de cada trabalho (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos trabalhos incluídos de acordo com os genes ou fatores epigenéticos envolvidos no autismo.

AUTOR	GENES OU FATOR EPIGENÉTICO ESTUDADOS	GENES JÁ ASSOCIADOS, ENTRETANTO COM VARIAÇÃO	ORIGEM	TIPOS DE PACIENTES	NÚMERO DE PACIENTES	SINTOMAS DOS PACIENTES	AMOSTRA UTILIZADA
Bruno *et al*, 2021.	MBP PCDHA1 PCDH15 PDPR	ACTB (c.583G > A) KCNQ2 (c.628C > T) KMT2A (c.478C > T) PACS1 (c.607C > T) POGZ (c.2716C > T) PERNA3 (c.1807_1811del) SMAD6 (c.137dup) SYNGAP1 (c.3670C > T)	De novo	19 paciente com DI 01 paciente com TEA alto funcionamento 40 pacientes com TEA e DI	60 pacientes 15 mulheres 45 homens	12% epilepsia 80% atraso de linguagem 66% atraso psicomotor 73% dimorfismo craniofacial	DNA genômico de amostras de sangue periférico EDTA
Siecinski *et al*, 2023.	genes que interagem com a ocitocina RBROX1 (variações rs9940013, rs8052564 e rs11645768) DLGAP2 TH GNG2 ESR1 PLCL1	DLGAP2 apresentou uma associação positiva com a ocitocina	metilação de DNA, atividade transcricional e variação genética	Pacientes com TEA	175 pacientes	não especifica	plasma EDTA coletadas na linha de base e nas semanas 8, 24, 36 e 48
Hicks *et al*, 2016.	14 miRNA miR-628-5p miR-127-3p miR-27a-3p miR-335-3p miR-2467-5p- miR-30e-5p miR-28-5p miR-191-5p miR-23-3p miR-3529-5p miR-218-5p miR-7-5p miR-32-5p miR-140-3p	não especifica	não especifica	crianças entre 4 e 14 anos com TEA leve	45 indivíduos 24 com TEA 21 grupo controle	sem histórico de transtorno neurológico, parto prematuro ou anormalidade cromossômica	amostras salivares coletadas entre 10h e 15h
Smith *et al*, 2012.	SNRPN UBE3A (CNV mais comum ocorreu em 15q11–q13.3)	*NDUFA4, NDUFA10, PPCDC, COX5, CYP11A, SLC25A15, MTRF, ETFDH* e *CBR4*	Variante no número de cópias	7 conjuntos de gêmeos monozigóticos 4 pares de irmão afetados e 35 pais	69 indivíduos	não especifica	Amostra de sangue

Fonte: próprios autores

Tabela 1. Descrição dos trabalhos incluídos de acordo com os genes ou fatores epigenéticos envolvidos no autismo. (continuação)

AUTOR	GENES OU FATOR EPIGENÉTICO ESTUDADOS	GENES JÁ ASSOCIADOS, ENTRETANTO COM VARIAÇÃO	ORIGEM	TIPOS DE PACIENTES	NÚMERO DE PACIENTES	SINTOMAS DOS PACIENTES	AMOSTRA UTILIZADA
Samane *et al*, 2018.	tipo 1, 2 e 3 do NRG1	não especifica	não especifica	1540 portadores de TEA (1020 homens e 520 mulheres) e 1490 crianças controle (970 homens, 520 mulheres)	3030 pacientes	pacientes que excederam o limite de pontuação do Autism Diagnostic Observation Schedule referindo a sintomas muito graves	sangue EDTA
Yingjun *et al*, 2017.	MED2C MEF2C	MAPK11 TSC2 F10	Variante no número de cópias	64 portadores de TEA	64 indivíduos	não especifica	sangue EDTA
Vadgama *et al*, 2019.	RASD2	CNV no CD38	variação de novo	diversos diagnósticos, ELA, AVC isquêmico, TEA, toc, TDAH etc	13 pares de gêmeos (n=26)	não especifica	sangue EDTA ou saliva
Guo *et al*, 2017.	duplicação *de novo* 15q11–13 Deleção no gene APBA2 GRAMD2 STAM	SHANK3 CDH10 CSMD1	de novo variante no número de cópias	não especifica	1534 Indivíduos 546 portadores de TEA 988 grupo controle	não especifica	sangue total
Tian *et al*, 2009.	genes que se relacionam com o chumbo em crianças autistas ao todo deram 31 genes (figura 1)	não especifica	não especifica	37 portadoras de TEA 15 desenvolvimento típico	52 crianças	sintomas variados entre os três níveis de TEA	sangue EDTA
Alolaby *et al*, 2017.	MAOA CGI-I BDNF 2C19 2D6 CYP2C19	As variantes *1, *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *15, *17, *29, *35, *41 foram identificadas para 2D6. As variantes *1, *2, *3 e *17 foram identificadas para 2C19.	variante no número de cópias	crianças com FXS (síndrome do X frágil) com idade entre 24 e 68 meses	51 crianças	Não especifica	sangue EDTA

Fonte: próprios autores

O estudo conduzido por Bruno *et al*. (2021) focou na identificação da etiologia do Transtorno do Espectro Autista (TEA) e revelou oito variações patogênicas em genes influentes no desenvolvimento do TEA. Além disso, foram encontradas quatro variantes de novo em genes candidatos, incluindo MBP, PCDHA1, PCDH15 e PDPR. O gene MBP, essencial para a formação da mielina, apresentou uma variante em um paciente com características como estereotipias nas mãos, hiperatividade, atraso de fala e distúrbio do sono. Na família de genes PCDHA, responsável pela codificação de proteínas associadas a funções de aprendizagem, memória e projeção axonal, o PCDHA1 foi identificado em pacientes com TDAH, atraso no desenvolvimento da fala e anomalias cerebrais. Já o PCDH15 apresentou uma variante associada a um paciente com epilepsia, atraso psicomotor e dificuldades de linguagem. A subunidade PDPR, com expressão predominante no cerebelo e corpo caloso, foi detectada em um paciente com retardo de

desenvolvimento e sintomas parecidos com a síndrome de Joubert.

Foram observadas três variantes comuns do gene RBFOX1 (rs9940013, rs8052564, rs11645768), que apresentaram uma relevância sugestiva. Além disso, identificou-se uma alteração no primeiro íntron do gene DLGAP2, associado ao TEA, que teve uma correlação positiva com os níveis de ocitocina plasmática. Essas análises também revelaram novas associações entre ocitocina e genes como RBFOX1, DLGAP, TH, GNG2, ESR1 e PLCL1, muitos deles já conhecidos por suas ligações com o TEA (Siencinski 2023).

O estudo de Hicks (2016), por sua vez, investigou 246 microRNAs em amostras de saliva, dos quais 14 mostraram alterações relevantes pelo teste de Mann-Whitney, sendo dez deles regulados positivamente e quatro negativamente em pacientes com TEA. Entre esses, os microRNAs miR-335-3p e miR-30e-5p destacaram-se pela alta precisão na previsão do diagnóstico do transtorno.

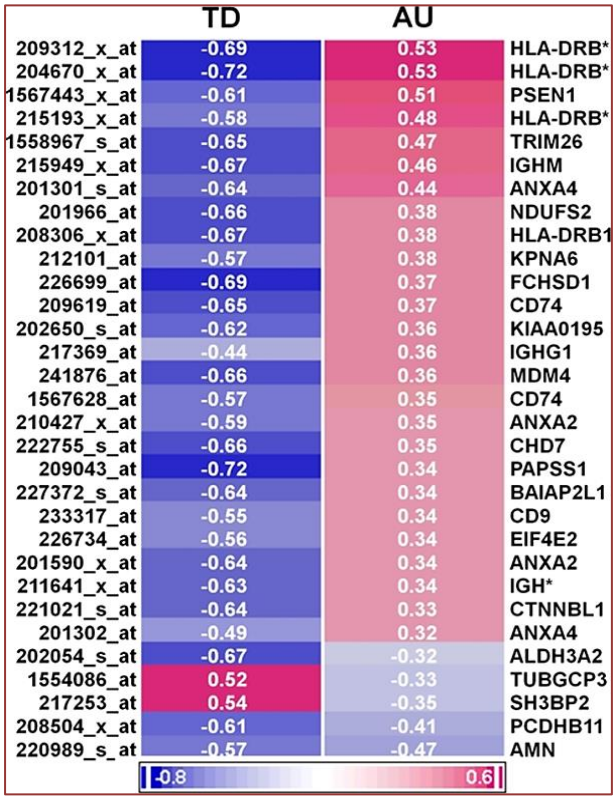
Uma deleção de aproximadamente 4 bases no cromossomo 12p e uma duplicação relativa no cromossomo 2p foram identificadas por Smith (2012). Os mesmos autores encontraram duplicações de 15q11.1-15q11.3, envolvendo os genes SNRPN e UBE3A, e uma deleção em 15q24.1-15q24.2 que removeu genes mitocondriais como COX5A e PPCDC. Variantes de número de cópia (CNVs) alteraram a quantidade de genes essenciais para a função mitocondrial, como NDUFA4, NDUFA10, PPCDC, COX5, entre outros.

No estudo de Abbasy *et al*. (2018), a dosagem de mRNA de Neuregulina1 em pacientes com TEA destacou o gene NRG1, com regulações negativas nos tipos I, II e III. O tipo I do NRG1 é essencial para a plasticidade neuronal, o tipo II para a formação de neurônios corticais, e o tipo III para a manutenção das células de Schwann.

Vadgama *et al*. (2017) identificaram uma variação de novo no gene RASD2 em gêmeos com suspeita de TEA e uma duplicação de novo CNV no gene CD38. O gene RASD2, que pertence à família de pequenas GTPases Ras, modula a neurotransmissão genética. Em uma análise feita por Guo *et al*. (2017), foi encontrada uma duplicação recorrente de 15q11-13 em cerca de 1% dos pacientes com TEA. Além disso, o estudo descobriu deleções no gene APBA2, até então não relacionadas ao TEA. Foram ainda identificados novos genes candidatos, incluindo uma deleção de novo em ARID1B e SHANK3, além de uma duplicação que afeta o gene CSMD3 e uma deleção em CDH10.

O estudo de Tian (2009) criou um esquema com 31 genes e 48 sondas que se sobrepõem a três modelos ANCOVA, mostrando correlações significativas entre os níveis de chumbo em indivíduos autistas e em desenvolvimento típico, com correlações positivas em vermelho e negativas em azul (Figura 1).

Figura 1: Mapa de calor que demonstra correlações negativas em azuis e correlações positivas em vermelho.



Fonte: (Tian, 2009).

O estudo de Yingjun *et al*. (2017) também encontrou uma deleção no gene MEF2C, associada ao autismo e importante para sobrevivência celular, plasticidade sináptica e diferenciação. CNVs foram também identificados em genes conhecidos por sua associação com o TEA, como MAPK11, TSC2 e F10.

Finalmente, Alolaby *et al*. (2017) avaliaram genes que influenciam a resposta à sertralina em pacientes com síndrome do X frágil. O genótipo CYP2C19 demonstrou uma resposta intensa em comparação com o placebo. O gene MAOA mostrou uma leve tendência ao efeito diferencial do tratamento. A resposta ao BDNF foi positiva segundo a Escala de Impressão Global Clínica (CGI-I), enquanto o CYP450 2D6 mostrou alterações em duas das quatro linhas de base analisadas. Em relação ao BDNF, o genótipo val/val apresentou mudanças notáveis, ao contrário de outros genótipos.

4. CONCLUSÃO

A análise dos estudos revisados demonstra a complexidade da etiologia do Transtorno do Espectro Autista (TEA), dando ênfase à inter-relação de diversos genes e variantes genéticas. Os achados de Bruno *et al*. (2021) salientam a identificação de variantes patogênicas em genes essenciais, como MBP e PCDHA, que estão associadas a características fenotípicas específicas, indicando que mutações nesses genes podem ter influência sobre o comportamento e o desenvolvimento neurológico em pacientes portadores de TEA. Siencinski (2023) apresenta novas conexões entre variações

genéticas e a ocitocina, um hormônio essencial na regulação social, dando ênfase à possibilidade de que fatores neurobiológicos desempenhem um papel no transtorno de maneira significativa.

Ademais, os estudos citados ilustram a importância das alterações no número de cópias (CNVs) e a identificação de novos genes candidatos, como NRG1 e MEF2C, que podem fornecer novas concepções.

Em síntese, esses não somente expandem a compreensão sobre a genética do TEA, como também abrem portas para novos estudos potenciais terapêuticos. A continuidade das investigações nesse campo é de suma importância para elucidar as interações genéticas e ambientais que interferem no TEA, possibilitando avanços e diagnósticos e tratamentos personalizados. A integração de diferentes abordagens genéticas pode levar a um entendimento mais holístico do transtorno, necessário para o desenvolvimento de estratégias.

REFERÊNCIAS

[1] American Psychiatric Association. **DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**, Porto Alegre, RS: Artmed, 5ª ed, 2014. Disponivel em: https://www.institutopebioetica.com.br/documentos/manual-diagnostico-e-estatistico-de-transtornos-mentais-

[2] Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. **Psychol Med**. 1995;25(1):63-78. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7792363/

[3] Brasil, Ministério da Saúde. **Definição - Transtorno do Espectro Autista (TEA) na criança**. 2021. Disponível em: https://linhasdecuidado.saude.gov.br/portal/transtorno-do-espectro-autista/definicao-tea/

[4] Canitano R. Epilepsy in autism spectrum disorders. **Eur Child Adolesc Psychiatry**. 2007 Feb;16(1):61-6. doi: 10.1007/s00787-006-0563-2. Epub 2006 Aug 24. PMID: 16932856. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16932856/

[5] Frieden TR, Jaffe HW, Cono J, Richards CL, Iademarco MF. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years – autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. MMWR **Surveill Summ**. 2014 Mar 28;63(2):1-21. Disponivel em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16932856/

[6] Grant JE, Chamberlain SR. Expanding the definition of addiction: DSM-5 vs. ICD-11. **CNS Spectrums2016**; 21:300-3. Disponível em: https://doi.org/10.1017/S1092852916000183

[7] GUPTA, Abha R., STATE, Matthew W. Autismo: Genética. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.28, 2006. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbp/a/JNHPsJRR7zc8fN57F9Gsf4s/abstract/?lang=pt

[8] Levenson D. Autism in siblings often caused by different faulty genes, study says. **Am J Med Genet A**. 2015 May;167A(5):ix. doi: 10.1002/ajmg.a.37112. PMID: 25885072. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25885072/

[9] Richdale AL, Schreck KA. Sleep problems in autism spectrum disorders: prevalence, nature, and possible biopsychosocial aetiologies. **Sleep Med Rev.** 2009 Dec. v. 13(6):403-11. doi: 10.1016/j.smrv.2009.02.003. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s40675-022-00234-5

[10] Rogers SJ, Hepburn S, Wehner E. Parent reports of sensory symptoms in toddlers with autism and those with other developmental disorders. **J Autism Dev Disord.** 2003 Dec;33(6):631-42. doi: 10.1023/b:jadd.0000006000.38991.a7. PMID: 14714932. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14714932/

[11] SABIN, Estudo genético do transtorno do espectro autista, Blog Sabin, disponível em: <https://blog.sabin.com.br/medicos/estudo-genetico-do-autismo/>. acesso em: 15 out. 2024.

[12] Satterstrom, F. Kyle *et al*, Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism, **Cell**, v. 180, n. 3, p. 568-584.e23, 2020. Disponivel em: https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(19)31398-4.pdf

[13] Solís-Añez, Ernesto; Delgado-Luengo, Wilmer; Hernández, María Luisa. Autismo, cromossoma 15 y la hipótesis de disfunción GABAérgica. **Revisión. Investigación Clínica**, v. 48, n.4, pub. 529-541, 2007. Disponivel em: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332007000400012

[14] Trost, B., Thiruvahindrapuram, B., Chan, A. J., Engchuan, W., Higginbotham, E. J., Howe, J. L., Scherer, S. W.. Genomic architecture of autism from comprehensive whole-genome sequence annotation. **Cell**, v. 185, n. 23, p. 4409-4427. e18, 2022.

[15] Valicenti-McDermott M, McVicar K, Rapin I, Wershil BK, Cohen H, Shinnar S. Frequency of gastrointestinal symptoms in children with autistic spectrum disorders and association with family history of autoimmune disease. **J Dev Behav Pediatr**. 2006 Apr;27(2 Suppl):S128-36. doi: 10.1097/00004703-200604002-00011. PMID: 16685179. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16685179/

[16] Volkmar FR, McPartland JC. From Kanner to DSM-5: autism as an evolving diagnostic concept. **Annu Rev Clin Psychol**. 2014;10:193-212. doi: 10.1146/annurev-clinpsy-032813-153710. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24329180. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24329180/

[17] White SW, Oswald D, Ollendick T, Scahill L. Anxiety in children and adolescents with autism spectrum disorders. **Clin Psychol Rev**. 2009 Apr;29(3):216-29. doi: 10.1016/j.cpr.2009.01.003. Epub 2009 Jan 25. PMID: 19223098; PMCID: PMC2692135. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2692135/

[18] Zafeiriou DI, Ververi A, Vargiami E. Childhood autism and associated comorbidities. **Brain Dev.** 2007;29(5):257-72. Review. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17084999/

Capítulo 4

Infertilidade sem causa aparente: uma revisão sistemática

Maria Eduarda Pego Alberton
Silvano Piovan

Resumo: A infertilidade humana pode decorrer de inúmeros fatores, incluindo o indivíduo masculino e o feminino, após todas as investigações padrões, caso os testes de ovulação, patência tubária e análise de sêmen estiverem normais, o diagnóstico se torna de infertilidade sem causa aparente ou inexplicável, a falta de conhecimento a respeito desse diagnóstico pode gerar um atraso e uma limitação em relação ao tratamento, atualmente as principais formas de tratar a infertilidade inexplicada são através da reprodução humana com técnicas como a inseminação intrauterina estimulada e fertilização em vitro. A pesquisa tem como objetivo investigar e comparar os resultados reprodutivos de diferentes abordagens terapêuticas, em casais diagnosticados com infertilidade sem causa aparente avaliando a inclusão de abordagens complementares, além das técnicas convencionais como inseminação intrauterina e fertilização *in vitro*, buscando aumentar as taxas de sucesso reprodutivo em casais com diagnóstico de infertilidade sem causa aparente, através de uma pesquisa qualitativa, exploratória na forma de uma revisão sistemática, o levantamento bibliográfico de artigos será realizado nas plataformas de pesquisa: Google Scholar, PubMed, Scopus, SciELO e ScienceDirect, com os seguintes termos de busca "infertility" OR "infertility male" OR "infertility female" AND "unexplained infertility" OR "idiopathic infertility" AND "artificial insemination" OR "*in vitro* fertilization". Serão considerados trabalhos publicados em inglês ou português, que atendam aos objetivos da pesquisa e que tenham sido publicados entre os anos de 2019 a 2024.

Palavras-chave: Infertilidade idiopática; Infertilidade inexplicável; Inseminação intrauterina; Fertilização *in vitro*.

1. INTRODUÇÃO

A infertilidade humana consiste na incapacidade biológica de gerar e condicionar uma gravidez, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica-se um casal infértil, aquele que mantém atividades sexuais sem nenhuma contracepção durante 1 ano sem conseguir engravidar (Boivin *et al*., 2007), pode decorrer de inúmeros fatores, incluindo tanto o indivíduo masculino como o feminino (Abreu; Sartorelli; Pereira, 2008). A infertilidade é classificada em primária, quando o indivíduo nunca teve filhos ou secundária, quando o indivíduo já possui filhos (Mumtaz; Shahid; Levay, 2013).

Segundo a OMS cerca de 17,5% da população adulta sofre com a infertilidade, sendo considerado um problema de saúde pública, em seu relatório publicado em 2023, relata que a infertilidade pode afetar um total de 80 milhões de pessoas em todo o mundo e, no Brasil, estima-se que 8 milhões de indivíduos podem ser inférteis. De todos os casos de infertilidade, 30% das causas estão vinculadas a fatores masculinos, 30% aos fatores femininos e 30% misto, que incluem os dois fatores, sendo 10% infertilidade idiopática, ou seja, infertilidade sem causa aparente (Olooto *et al*., 2012).

A infertilidade masculina pode ser caracterizada por diversas causas, entre elas a oligospermia, no qual o líquido espermático não apresenta nível suficiente de esperma e a azoospermia, em que há ausência da produção de espermatozoides (Almeida; Bachu, 2022). Ambas podem ser geradas por distintos fatores como, obesidade, abuso de substâncias, infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), estilo de vida, fatores fisiológicos e genéticos (Dissanayake; Keerthirathna; Peiris, 2019). Apesar da etiologia diversificada, a infertilidade masculina não é totalmente compreendida, sendo que 50% dos casos possuem causa definida (Esteves, 2016).

Na mulher, a infertilidade se dá em decorrência de doenças ginecológicas e sistêmicas, sendo as principais a endometriose, disfunção ovulatória, insuficiência ovariana prematura, síndrome dos ovários policísticos, obesidade, distúrbios na tireoide, miomas, menopausa precoce, idade avançada, secreção excessiva de prolactina, inconsistências tubárias e do canal endocervical (Silvestris; Lovero; Palmirotta, 2019). Outros fatores como a qualidade de vida, ISTs, abuso de substâncias, estresse, exposição a produtos químicos podem afetar a saúde reprodutiva de mulheres (Fonseca *et al*., 2023).

Analisando o histórico clínico dos indivíduos, o médico solicitará testes e exames para auxiliá-lo a definir a causa da infertilidade e o melhor tratamento, de acordo com as técnicas de reprodução mais viáveis (Santos; Ramos, 2010). A reprodução assistida (RA) é um conjunto de métodos de intervenções que auxiliam na realização da gestação de casais inférteis, a escolha do melhor tratamento depende de inúmeros fatores, de acordo com a causa da infertilidade, na maioria dos casos há preferência pelos métodos menos invasivos e com a maior taxa de sucesso (Aleixo; Almeida, 2022). As principais técnicas utilizadas da RA em humanos são: Inseminação Intra-Uterina (IIU); Fertilização *in vitro* (FIV); Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICIS); Transferência de Embrião Congelado (TEC) (Souza; Alves, 2016).

Após todas as investigações padrões, caso os testes de ovulação, patência tubária e análise de sêmen estiverem normais, o diagnóstico se torna de infertilidade sem causa aparente (ISCA) ou inexplicável (Ray *et al*., 2012). As causas que possuem maior potencial para explicar esse diagnóstico são distúrbios endócrinos, imunológicos, fisiológicos, genéticos e reprodutivos (Pellicer *et al*., 1998). A falta de conhecimento a respeito da ISCA pode gerar um atraso no diagnóstico e uma limitação em relação ao tratamento (Cordeiro

et al., [s.d.]), atualmente as principais formas de tratar a infertilidade inexplicada são através de IIU e FIV (Homburg, 2022).

A IIU, caracteriza-se pela introdução do sêmen preparado em laboratório, no interior do útero da paciente com o auxílio de um cateter específico, por isso é necessário que ocorra no período ovulatório da mulher, sem necessitar de anestesia (Aleixo; Almeida, 2022). Esse método é utilizado principalmente em tratamento de disfunções ovulatórias ou cervicais, fator masculino de infertilidade leve ou moderado, endometriose e infertilidade idiopática (Caetano *et al*., 2005). A eficácia desse tratamento apresenta diminuição após várias tentativas sem sucesso, por isso o mais indicado é restringir em apenas 3 ou 4 ciclos (Aboulghar *et al*., 2001).

A segunda técnica utilizada é a FIV, que consiste na manipulação dos gametas, espermatozoides e óvulos, em laboratório, na qual ocorre fecundação extracorpórea (Zegers-Hochschild *et al*., 2009), após a manipulação e fecundação *in vitro*, o embrião é transferido para o útero da mãe (Sunderam, 2019). Todo esse processo é divido em etapas, sendo elas: Indução da ovulação; controle do crescimento folicular; coleta de óvulos; coleta do esperma; inseminação *in vitro*; transferência de embriões para o útero; suporte da fase lútea e identificação da gravidez, todas elas ocorrem no período de duas semanas, denominado ciclo de fertilização *in vitro* (Rocha *et al*., 2022).

A pesquisa em questão pretende avaliar a inclusão de abordagens complementares, além das técnicas convencionais como IIU e FIV, buscando aumentar as taxas de sucesso reprodutivo em casais com diagnóstico de ISCA.

2. METODOLOGIA

2.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de uma pesquisa qualitativa, exploratória na forma de uma revisão sistemática com protocolo do estudo registrado no site da *National Library of Medicine*, seguindo as diretrizes e protocolos do *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analysis Protocols (*PRISMA-P).

2.2. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram considerados trabalhos publicados em inglês ou português, que atendam aos objetivos da pesquisa e que tenham sido publicados entre os anos de 2019 a 2024. Para evitar a seleção de estudos irrelevantes para a pesquisa, foram excluídos os artigos duplicados e artigos considerados irrelevantes para a pesquisa após a leitura completa.

2.3. ESTRATÉGIA DE BUSCA

O levantamento bibliográfico de artigos foi realizado nas plataformas de pesquisa: Google Scholar, PubMed, Scopus, SciELO e ScienceDirect, onde foram selecionados inicialmente 131 artigos de acesso gratuito, em língua inglesa, publicados entre 2019 e 2024. A pesquisa foi realizada no dia 24 de abril de 2024.

A partir das palavras-chaves, foram elaborados os termos de pesquisa. Esses termos incluem máscaras (*) para incluir variações (de gênero e de quantidade) e operadores lógicos para restringir (AND) ou ampliar (OR) o escopo. Desta forma, foram

elaborados os seguintes termos de busca: “infertility” OR “infertility male” OR “infertility female” AND “unexplained infertility” OR “idiopathic infertility” AND “artificial insemination” OR “*in vitro* fertilization”.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos nessa revisão sistemática indicam, que novas abordagens estão sendo pesquisadas para diferentes causas de infertilidade incluindo a ISCA, esses achados corroboram com a hipótese inicial de que a inclusão de abordagens complementares, além das técnicas convencionais como IIU e FIV, estão buscando aumentar as taxas de sucesso reprodutivo, as taxas de gestações e nascidos vivos em casais com diagnóstico de infertilidade, principalmente ISCA.

Dentre os artigos encontrados, três trouxeram estudos significativos sobre a Transferência de embriões (TE), Arefi *et al*., (2022) analisou a TE sequencial em duas etapas, sendo elas no dia 3 e no dia 5 de embriões congelados e descongelados, avaliando a melhoria da taxa de gravidez em indivíduos que sofrem de falhas de fertilização *in vitro* (FIV), um total de 200 mulheres que sofrem com infertilidade participaram da pesquisa, as participantes foram divididas em dois grupos, sendo o primeiro para TE sequencial (duas etapas) no dia 3/dia 5 e o segundo para transferência de embriões congelados (FET) convencional do dia 5, as características dos dois grupos foram comparadas e analisou-se uma taxa de gravidez maior no grupo FET sequencial de duas etapas em comparação com o grupo do dia 5, sendo assim a TE congelados-descongelados no dia 3/dia 5 foi mais eficaz do que a convencional para pacientes que sofreram repetidas falhas de FIV.

O estudo de Song *et al*., (2021) sobre a TE comparou a transferência imediata e a tardia de embriões congelados em mulheres após fracasso na FIV, o estudo visou entender o momento ideal para realizar a transferência, 732 mulheres inférteis foram analisadas, separas em dois grupos, sendo um de FET imediato (primeiro ciclo menstrual após fracasso) e um de FET atrasado (segundo ciclo menstrual após fracasso), o FET imediato trouxe resultados melhores, com nível de estresse menor, uma frequência maior de gravidez clínica, menor frequência de perda bioquímica da gravidez e maior frequência de implantação embrionária. Um terceiro autor também comparou a TE frescos versus congelamento, porém somente após maturação *in vitro* com etapa de pré-maturação (CAPA-IVM) em mulheres com alta contagem de folículos antrais, 40 mulheres participaram da pesquisa, o estudo concluiu que a eficácia do CAPA-IVM poderia ser melhorada usando uma estratégia apenas de congelamento seguida de TE congelada em ciclos subsequentes (VUONG *et al*., 2021).

Sobre a FET, o estudo de Yung *et al*., (2021) comparou os efeitos do meio de transferência enriquecido com ácido hialurônico (AH) e o meio padrão na taxa de nascidos vivos após FET, o estudo investigou 550 mulheres, divididas em grupo AH e grupo controle, o AH foi utilizado como suplemento do meio de transferência padrão, para melhoras a implantação, porem seu uso não melhora a taxa de nascidos vivos de FET em comparação com o meio de transferência padrão.

Outros estudos relevantes buscaram deliberar sobre a falha de implantação repetida (RIF), quando os embriões transferidos falham na implantação após várias tentativas de FIV, o primeiro de Bakry *et al*., (2022) através da comparação do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e a gonadotrofina coriônica humana (HCG), em 100 mulheres com RIF submetidas à injeção intracitoplasmática de

espermatozóide (ICSI), divididas em dois grupos, no qual no dia da TE um grupo foi injetado com HCG e o outro com G-CSF, o estudo observou melhora nos resultados de gravidez favorecendo o G-CSF. O segundo de Bakhsh *et al*., (2022), analisou o efeito do plasma rico em plaquetas (PRP) em 100 mulheres com RIF submetidas a ICSI ou FIV, também divididas em dois grupos, um grupo tratado por infusão intrauterina de PRP e o outro por cateterismo intrauterino, o grupo por infusão intrauterina de PRP teve maior sucesso nos resultados de gravidez em pacientes com RIF.

Dois estudos randomizados utilizaram de culturas como abordagens terapêuticas para analisar a formação e a qualidade dos embriões, através de técnicas de reprodução assistida (RA), Fawzy *et al*., (2019) usou como abordagem a integração do fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), fator de crescimento semelhante ao fator de crescimento epidérmico de ligação à heparina (HB-EGF) e fator inibidor de leucemia (LIF) em meios de cultura em embriões humanos, com 443 ciclos randomizados em dois grupos de ICSI, com isso foi possível visualizar a melhora na taxa de gravidez contínua em comparação com a ausência de citocinas. Já o estudo de Aguiar *et al*., (2023) testou a cultura intravaginal (IVC), através de dois grupos com 8 casais cada, um em cultura por 3 dias e outro em cultura por 5 dias, utilizando o aparelho INVOcell e técnica convencional de FIV, os resultados mostraram que a técnica IVC, utilizando o dispositivo proporcionou a obtenção de embriões de qualidade com três e cinco dias de cultura.

Dois Acetatos foram estudados em ciclos de FIV, Morgante *et al*., (2020) usou o Acetato de Ulipristal (UPA), um modulador seletivo do receptor de progesterona, na restauração da deformação da cavidade uterina devido a miomas submucosos, o estudo envolveu 27 mulheres antes do ciclo de FIV, as mesmas receberam de 1 a 3 ciclos de tratamento de UPA, o resultado da FIV e o impacto da UPA na redução do volume dos miomas foram comparados com um grupo controle, 26 pacientes do estudo revelaram uma redução média do volume dos miomas em 41% e os resultados de gravidez foram semelhantes nos dois grupos, sendo assim a restauração pelo tratamento com UPA antes da FIV pode evitar a cirurgia e estabelecer uma taxa de gestações semelhante a um grupo controle sem miomas. Tandulwadkar *et al*., (2023) comparou o efeito do Acetato de Medroxiprogesterona (MPA) com o Liberador de Gonadotrofina Antagonista hormonal para a prevenção do aumento prematuro do hormônio luteinizante (LH) em mulheres hiper-respondedoras submetidas à estimulação ovariana controlada para ciclos de FIV e ICSI, em dois grupos de 50 mulheres, o grupo um recebeu a dosagem de MPA e o grupo dois recebeu antagonista de GnRH, os grupos não apresentaram aumento prematuro do LH, afirmando assim que o MPA pode ser uma alternativa eficaz.

Diferentes artigos usaram estimulação ovariana para FIV, Yang *et al*., (2022) usou a dosagem individual de folitropina delta de dose fixa versus folitropina alfa em um regime de dosagem convencional ajustável, em 759 mulheres chinesas, as mesmas foram randomizadas em uma proporção de 1:1, as com folitropina delta foram tratadas com base no hormônio anti-Mülleriano (AMH) e peso corporal, as com folitropina alfa com um protocolo antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), como resultado a folitropina delta em seu regime individual de dose fixa mostrou eficácia similar e maior segurança em comparação com a folitropina alfa em um regime de dosagem convencional ajustável. Revelli *et al*., (2020) por sua vez, comparou corifolitropina alfa (CFÿ) de início tardio (dia 4) versus administração padrão (dia 2), analisando a produção de ovócitos e a taxa de nascidos vivos. 113 mulheres participaram da pesquisa, foram divididas em três subgrupos dependendo da resposta ao FSH (fraca, normal e alta), randomizadas em dois

grupos, um para o tratamento tardio e outro para o padrão, os resultados trouxeram que para pacientes com resposta alta ou normal ao FSH o CFÿ pode ser administrado no dia 2 ou no dia sem alterações, já para paciente com baixa resposta a administração de início tardio não é aconselhável.

Ainda falando de estimulação ovariana, Pasqualini *et al*., (2021) comparou um hormônio folículo estimulante humano recombinante biossimilar (Folitime®) com um Gonal-f® em mulheres submetidas a estimulação ovariana para FIV, divididas em dois grupos, um grupo Folitime® e o outro grupo Gonal-f®, receberam durante uma fase de dose fixa de 5 dias 225 UI/dia de Folitime® ou Gonal-f®, seguida de fase de adaptação da dose até no máximo 450 UI/dia, com isso foi possível concluir que Folitime® não é inferior ao Gonal-f®, não possuindo diferenças no perfil de segurança e eficácia. No estudo de Hu *et al*., (2020) 451 pacientes inférteis foram randomizado para receber seringa pré-cheia Follitrope™ ou caneta Gonal-F® para estimulação ovariana, comparando assim as respostas ovarianas após a administração de dois hormônios folículo-estimulantes recombinantes (r-FSH), o estudo demonstrou que a seringa pré-cheia FollitropeTM não é inferior à caneta Gonal-F® e que a mesma é segura e eficaz para estimulação ovariana.

Acerca do desenvolvimento embrionário, dois estudos relataram diferentes formas de pesquisa, Li *et al*., (2020) investigou a eficácia da suplementação com hormônio do crescimento (GH) durante a FIV para 158 pacientes com desenvolvimento embrionário deficiente, com um grupo para tratamento com GH e outro para controle, a respeito dos resultados, o grupo de co-tratamento com GH apresentou um número significativamente maior de oócitos recuperados e embriões clivados, a taxa de implantação, gravidez clínica por ciclo e de nascidos vivos também foram maiores no grupo GH, chegando a conclusão que a suplementação de GH pode apoiar mais nascimentos vivos durante a FIV, em pacientes com desenvolvimento embrionário deficiente. Diferentemente disso Novoselsky Persky *et al*., (2021) comparou o desenvolvimento embrionário em dois tratamentos diferentes, sendo eles a ICSI padrão e a seleção fisiológica de espermatozoides para ICSI (PICSI) em oócitos irmãos que seleciona os espermatozoides a partir da ligação do esperma ao ácido hialurônico, as taxas de fertilização e transferência de embriões elegíveis foram maiores nos pacientes que utilizaram o PICSI, porem concluiu- se que esse método deve ser usado em casos selecionados já que a maioria dos pacientes desse estudo tiveram pelo menos um ciclo anterior de FIV sem sucesso.

Em relação a fase lútea, dois artigos trouxeram alternativas de suporte em ciclos de FIV, Fusi *et al*., (2019) utilizou do agonista de GnRH, triptorelina para avaliar seu efeito em ciclos antagonistas curtos, em comparação com ciclos padrões de suplementação com progesterona, no total 1.344 pacientes participaram do estudo e foram observados aumento nos resultados HCG positivo, nas taxas de gravidez clinicas e de parto com a utilização de triptorelina para sustentar a fase lutea. Ikechebelu *et al*., (2023) comparou a didrogesterona oral e pessário de progesterona vaginal micronizada (MVP) como suporte da fase lutea, 162 pacientes foram incluídas no estudo, porem a didrogesterona oral e o pessário MVP tiveram taxas de gravidez e efeitos adversos semelhantes, concluindo apenas que a didrogesterona é melhor tolerada, mais barata, mais fácil de usar e menos dispendiosa em casos de suporte da fase lútea em ciclos de FIV.

Estudos diferentes utilizaram da suplementação como forma de tratamento para a infertilidade, sendo um deles para infertilidade masculina e um para infertilidade feminina, Conforti *et al*., (2024) avaliou a suplementação feminina com resveratrol e seu impacto na FIV, já que esse composto possui muitos benefícios a saúde humana e pode

melhorar a atividade mitocondrial, 73 mulheres participaram do estudo randomizado, divididas entre grupo resveratrol e grupo placebo, os grupos receberam 150 mg dos compostos por dia durante 3 meses antes da estimulação ovariana (OS), em sua conclusão o estudo indica o pré-tratamento com resveratrol para melhorar a sensibilidade ovariana ao FSH exógeno, e por sua vez, diminuir o risco de hipo-resposta ao OS em mulheres em idade reprodutiva avançada.

Para a suplementação masculina, Gambera *et al*., (2019) avaliou um suplemento antioxidante para a melhora dos parâmetros espermáticos (quantidade, motilidade, morfologia, viabilidade) e no número de concepções em pacientes inférteis submetidos a ICSI, 32 pacientes foram incluídos no estudo, o suplemento alimentar antioxidante continha L-Arginina, Coenzima Q10, Vitamina C, Vitamina B3, Tribulus (Tribulus terrestris), Ginseng (Panax ginseng), Inositol e Vitamina E, os pacientes selecionados tomaram um sache por dia durante 65 dias, com isso os resultados sugerem que a suplementação alimentar melhora os parâmetros do sêmen e os níveis de estresse oxidativo foram notavelmente menor após o tratamento, sendo assim a avaliação dos níveis de estresse oxidativo pode tornar-se um instrumento de diagnóstico na avaliação da infertilidade masculina em pacientes em ciclos de tecnologia de reprodução assistida (TARV).

A pesquisa desenvolvida por Quaas *et al*., (2021) estudou a associação da espessura endometrial (EMT) com taxas de nascidos vivos (LBR) em tratamentos de estimulação ovariana com inseminação intrauterina (OS-IUI) para infertilidade inexplicada (ISCA), 868 casais com ISCA participaram da pesquisa com um total de 2.459 ciclos, divididos em três grupos, cada grupos recebeu uma estimulação diferente, sendo com gonadotrofina, clomifeno ou letrozol, chegou à conclusão que na OS-IUI para ISCA, maiores LBR são observados com o aumento da EMT, porém não pôde ser separado da relação entre o tipo de tratamento e as taxas de nascidos vivos, entre os ciclos de IUI para ISCA, a EMT não foi associada às LBR após o controle do tratamento de estimulação ovariana.

O estudo de Stevens Brentjens *et al*., (2023), reuniu 40 pacientes de FIV, para estudar a relação entre a concentração de esteróides (estrogênios, progestágenos, andrógenos e corticosteróides) no endométrio, no soro, e o nível de expressão gênica de enzimas metabolizadoras de esteróides no contexto da receptividade endometrial, 20 mulheres com gravidez clínica foram comparadas com 20 mulheres que não engravidaram após transferência de embriões frescos, a analise mostrou que as concentrações de esteróides são reguladas pelo metabolismo local no endométrio, mesmo não tendo sido encontradas diferenças nas concentrações endometriais em pacientes gestantes e não gestantes de FIV.

Duas pesquisas utilizaram o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) para seus estudos, Qu; Li, (2020) reuniram 80 pacientes com falha na primeira FIV para avaliar a adição de agonista do GnRH em dose múltipla versus dose única ao suporte da fase lútea, as pacientes foram aleatoriamente divididos em grupos de dose única e dose múltipla, as taxas de gestações, gravidez clínica e LBR foram maiores na dose múltipla de Agonista do GnRH, a adição diária do mesmo para a fase lútea, pode alcançar melhores resultados em pacientes com falha na primeira FIV associada a deficiência dessa fase. O estudo de Zhang *et al*., (2021), buscou investigar o protocolo de pré-tratamento com antagonista de GnRH em mulheres ovulatórias, comparando com o protocolo convencional com antagonista de GnRH, estudou 136 mulheres submetidas a FIV ou ICSI, porém os resultados de oócitos recuperados e número de gravidez não foram significativos.

O artigo desenvolvido por Jinno *et al*., (2021) teve como foco pacientes idosas submetidas a TARV, um estudo sobre um medicamento fitoterápico, o extrato de Hishi (Trapa bispinosa Roxb.), que tem como uma das funções inibir a formação de glicação avançada (AGE) *in vitro*, a pesquisa investigou se Hishi reduz a idade e aumenta o número de nascidos vivos em 64 pacientes de 38 a 42 anos de idade, divididas em dois grupos, o grupo Hishi recebeu o extrato (100 mg/dia) até o final da gravidez ou falha e o grupo controle não recebeu o extrato, os resultados apontaram que o Hishi melhorou o potencial de desenvolvimento de oócitos, a taxa acumulada de nascidos vivos, melhorou a receptividade endometrial e diminuiu AGE no soro e no líquido folicular (FF).

A análise feita por Polzikov *et al*., (2022), buscou investigar a combinação dos níveis séricos de folato e magnésio total (Mg) e cálcio (Ca) antes da OS, em 110 mulheres normogonadotrópicas, com os resultados de TARV, os resultados mostraram que pacientes com concentrações séricas mais altas de folato tiveram números totais de oócitos recuperados, número de gravidez clínica e LBR significativamente mais baixos, sugerindo então que um nível basal elevado de folato sérico e uma relação Ca/Mg mais baixa estão associados a resultados piores de TARV em mulheres normogonadotrópicas.

Tabela 1. Descrição dos trabalhos incluídos de acordo com a abordagem terapêutica e as causas da infertilidade

Artigo	Abordagem terapêutica	Causa da infertilidade	Resultados	Sexo/idade	Tecnica
Aguiar *et al*., 2023.	Técnica de cultura vaginal com aparelho INVOcell.	Fatores tubários, ovulatórios e infertilidade idiopática.	Técnica IVC, utilizando o dispositivo proporcionou um ambiente saudável para a obtenção de embriões de qualidade.	Casais <35 anos	FIV.
Arefi *et al*., 2022.	Transferência sequencial de embriões.	Problemas endometriais.	TE congelados-descongelados no dia 3/ dia 5 foram mais eficazes para pacientes que sofreram repetidas falhas de FIV.	Mulheres de 20 e 39 anos.	ICSI.
Bakhsh *et al*., 2022.	Plasma rico em plaquetas.	Histórico de RIF.	Houve uma diferença estatística significativa entre os dois grupos.	Mulheres	ICSI.
Bakry *et al*., 2022.	Eficácia do G-CSF e do HCG.	Histórico de RIF.	Melhora significativa favorecendo o G-CSF em relação ao HCG.	Mulheres de 20 e 43 anos.	ICSI.
Conforti *et al*., 2024.	Suplementação à base de resveratrol.	Fatores idiopático, tubário, masculino leve e moderado.	Um aumento estatisticamente significativo na taxa de produção folicular e no índice folículo-oócito.	Mulheres >35 anos.	FIV ou ICSI.
Fawzy *et al*., 2019.	Enriquecimento de citocinas do meio de cultura.	SOP, fator tubário, idiopático, masculino.	A integração de citocinas em meios de cultura mostrou melhora nos resultados embriológicos e clínicos após ICSI.	Mulheres de 18 e 40 anos.	ICSI.
Fusi *et al*., 2019.	Adição de triptorelina em ciclos antagonistas curtos.	Critérios de exclusão: Endometriose estágio III ou IV, Fator masculino grave e SOP.	Aumento nos resultados positivos de HCG, nas taxas clínicas de gravidez e nas taxas de parto.	Mulheres.	FIV.
Gambera *et al*., 2019.	Suplemento antioxidante.	Oligoastenoteratozoospermia.	Melhora nos parâmetros do sêmen.	Homens.	ICSI.
Hu *et al*., 2020.	Administração de r-FSH TM e preparações Gonal, negativa do análogo de caneta Follitrope F® com regulação GnRH.	Fatores tubários, idiopáticos, combinados e infertilidade masculina.	A seringa pré-preenchida FollitropeTM é segura e eficaz para estimulação ovariana.	Mulheres de 20 e 39 anos.	FIV ou ICSI e TE.
Ikechebelu *et al*., 2023.	Comparar medicação de dois regimes de suporte à fase lútea: DYD oral e pessário MVP.	Fatores tubário, menopausa, SOP, Sinéquia uterina, Endometriose, idiopático.	O DYD oral é uma alternativa viável ao pessário MVP devido às suas taxas de gravidez semelhantes e menos efeitos adversos.	Mulheres de 20 e 40 anos.	FIV-TE
Jinno *et al*., 2021.	Uso de Hishi.	Infertilidade tubária, disfunção ovariana, endometriose, masculina e SOP.	Hishi diminuiu a AGE no soro e no FF e melhorou o potencial de desenvolvimento oocitário e a receptividade endometrial, aumentando o nº de nascidos vivos em pacientes mais velhas.	Mulheres de 38 a 42 anos.	FIV ou ICSI.

Fonte: próprios autores.

Tabela 1. Descrição dos trabalhos incluídos de acordo com a abordagem terapêutica e as causas da infertilidade (continuação)

Artigo	Abordagem terapêutica	Causa da infertilidade	Resultados	Sexo/idade	Tecnica
Li *et al.*, 2020.	Eficácia do co-tratamento com GH.	Infertilidade inexplicável.	O GH pode apoiar mais nascimentos vivos durante a FIV, em pacientes com desenvolvimento embrionário deficiente.	Mulheres de 20 e 45 anos.	FIV.
Morgante *et al.*, 2020.	Avaliar o acetato de ulipristal (UPA).	Miomas, fatores tubários e idiopáticos.	A restauração com UPA antes da FIV evita a cirurgia e estabelece uma taxa de gravidez comparável a um grupo de controle.	Mulheres de 20 e 38 anos.	FIV ou ICSI.
Novoselsky Persky *et al.*, 2021.	Comparar a ICSI e PICSI em oócitos irmãos.	Fatores masculino, idiopático e anovulação.	O PICSI melhora as taxas de fertilização e as taxas de TE elegíveis em oócitos irmãos.	47 ciclos de FIV.	FIV ou ICSI.
Pasqualini *et al.*, 2021.	Eficácia de um hormônio folículo estimulante humano recombinante biossimilar com Gonal-f®.	Fatores tubários, masculino ou idiopático.	Folitime® não é inferior ao Gonal-f®, sem diferenças no perfil de segurança.	Mulheres de 18 e 38 anos.	FIV.
Polzikov *et al.*, 2022.	Avaliar níveis séricos de folato, Mg total e Ca antes da estimulação ovariana.	Fatores tubários e/ou masculino.	Nível basal elevado de folato sérico e uma relação Ca/Mg mais baixa estão associados a piores resultados de TARV em mulheres normogonadotrópicas.	Mulheres de 20 a 35 anos.	TARV.
Qu e Li., 2020.	Avaliar a adição de agonista do GnRH-a em dose múltipla versus dose única.	Anormalidade tubária, fator masculino, cervical, falha na ovulação, endometriose e idiopático.	A adição diária de GnRH-a ao LPS padrão pode alcançar melhores resultados na gravidez.	Mulheres de 20 a 40 anos.	ICSI.
Quaas *et al.*, 2021.	Associação da espessura endometrial em tratamentos de OS-IUI.	Infertilidade inexplicada.	Na OS-IUI para infertilidade inexplicada, maiores LBR são observados com o aumento da EMT.	Casais de 18 e 40 anos.	OS-IUI.
Revelli *et al.*, 2020.	Avaliar a administração de corifolitropina-ÿ de início tardio e a administração padrão.	Infertilidade masculina ou relacionada às trompas.	O CFÿ pode ser administrado no dia 2 ou no dia 4 a pacientes com resposta alta ou normal ao FSH.	Casais de 18 e 43 anos.	FIV.
Schisterman *et al.*, 2020.	Impacto da suplementação dietética diária de ácido fólico e zinco.	Fatores masculinos de infertilidade.	Não esclarecido	Homens > 18 anos.	FIV.
Song *et al.*, 2021.	Momento ideal para a TE congelados e descongelados.	Fatores tubário, masculino, combinado, idiopático e anovulação.	O FET imediato resultou em taxas mais altas de gravidez contínua e de nascidos vivos do que o FET tardio.	Mulheres de 21 e 43 anos.	IU ou ICSI.
Stevens Brentjens *et al.*, 2023.	Concentração de esteróides e o nível de expressão gênica de enzimas metabolizadoras de esteróides.	Fatores masculino, idiopático, patologia tubária unilateral e combinação.	Análises esteroidômicas e transcriptômicas mostram que as concentrações de esteróides são reguladas pelo metabolismo local no endométrio.	Mulheres de 18 a 44 anos	FIV ou ICSI.
Tandulwadkar *et al.*, 2023.	Efeito do acetato de medroxiprogesterona versus antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina.	Não esclarecido, exclusão para fator masculino grave.	O MPA pode ser uma alternativa eficaz ao antagonista do GnRH.	Mulheres <35 anos.	FIV ou ICSI.
Vuong *et al.*, 2021.	Estratégia de congelamento versus TE frescos após MIV com etapa de pré-maturação.	AFC alta, folículos antrais em ambos os ovários e SOP.	Eficácia do CAPA-IVM poderia ser melhorada usando uma estratégia apenas de congelamento seguida de TE congelada em ciclos subsequentes.	Mulheres de 18 e 37 anos.	TE frescos.
Yang *et al.*, 2022.	Eficácia da folitropina delta com folitropina alfa.	Infertilidade tubária, inexplicada, endometriose estágio I /II e infertilidade masculina.	A folitropina delta mostrou eficácia semelhante e maior segurança em comparação com a folitropina alfa.	Mulheres de 20 e 40 anos.	FIV ou ICSI.
Yung *et al.*, 2021.	Meio de transferência enriquecido com ácido hialurônico versus meio padrão.	Endometriose, fator masculino, tubário, Inexplicável e combinado.	O uso de meio de transferência enriquecido com HA não melhora a taxa de nascidos vivos de FET em comparação com o meio padrão.	Mulheres <43 anos.	FIV ou ICSI.
Zhang *et al.*, 2021.	Protocolo de pré-tratamento com antagonista de GnRH.	Fator tubário, inexplicado, combinando causas masculinas e femininas.	O nº de oócitos recuperados e os resultados da gravidez não variaram significativamente.	Mulheres <40 anos.	FIV ou ICSI.

Fonte: próprios autores.

4. CONCLUSÃO

Os estudos revisados fornecem uma visão abrangente sobre diferentes abordagens e intervenções utilizadas em tratamentos de infertilidade, com foco em técnicas de suporte à fase lútea, suplementação dietética e métodos de transferência de embriões. De modo geral, as intervenções avaliadas mostram-se promissoras, com melhorias relevantes nas taxas de gravidez e nascidos vivos. No entanto, é crucial ressaltar que os resultados variam consideravelmente dependendo do protocolo específico e das características individuais dos pacientes.

Além disso, embora alguns métodos, como a suplementação com resveratrol e o uso de progesterona didrogesterona, tenham mostrado benefícios claros, ainda há necessidade de estudos adicionais para confirmar sua eficácia em diferentes situações e condições clínicas. Portanto, a escolha das intervenções deve ser personalizada, considerando as evidências disponíveis e as particularidades de cada caso.

REFERÊNCIAS

[1] ABOULGHAR, M. et al. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of unexplained infertility should be limited to a maximum of three trials. **Fertility and Sterility**, v. 75, n. 1, p. 88–91, 1 jan. 2001.

[2] ABREU, L. S. DE; SARTORELLI, E. M. P.; PEREIRA, E. T. Citogenética de casais inférteis. **ACM arq. catarin. med**, p. 11–17, 2008.

[3] AGUIAR, L. DE F. et al. Randomized prospective study comparing conventional *In vitro* Fertilization technique to Intravaginal Culture with the INVOCELLTM device for 3 and 5 days. JBRA Assisted Reproduction, v. 27, n. 3, p. 360–366, 2023.

[4] ALEIXO, A. M.; ALMEIDA, V. Reprodução humana assistida. **Revista de Ciência Elementar**, v. 10, n. 3, 2022.

[5] ALMEIDA, M. I. DE; BACHUR, T. P. R. **Coletânea de Monografias do curso de medicina da UECE**. [s.l.] Amplla Editora, 2022.

[6] AREFI, S. et al. Sequential (two-step) day 3/day 5 frozen-thawed embryo transfer: does it improve the pregnancy rate of patients suffering recurrent implantation failure? Journal of Medicine and Life, v. 15, n. 11, p. 1365–1370, nov. 2022.

[7] BAKHSH, A. S. et al. Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma in women with repeated implantation failure undergoing assisted reproduction. JBRA assisted reproduction, v. 26, n. 1, p. 84–87, 17 jan. 2022.

[8] BAKRY, M. S. et al. Granulocyte colony stimulating factor versus human chorionic gonadotropin for recurrent implantation failure in intra cytoplasmic sperm injection: a randomized clinical trial. BMC pregnancy and childbirth, v. 22, n. 1, p. 881, 29 nov. 2022.

[9] CAETANO, J. P. J. et al. Comparação entre três esquemas de indução da ovulação para inseminação intra-uterina com relação à espessura endometrial e taxa de gravidez. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, p. 7–11, jan. 2005.

[10] CONFORTI, A. et al. The impact of resveratrol on the outcome of the *in vitro* fertilization: an exploratory randomized placebo-controlled trial. Journal of Ovarian Research, v. 17, n. 1, p. 81, 15 abr. 2024

[11] CORDEIRO, M. F. et al. A IMPORTÂNCIA DA HISTEROSCOPIA ACOMPANHADA DE BIÓPSIA NO DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDADE INEXPLICADA EM MULHERES NO IMIP: UM ESTUDO TRANSVERSAL. [s.d.].

[12] DISSANAYAKE, D. M. I. H.; KEERTHIRATHNA, W. L. R.; PEIRIS, L. D. C. Male Infertility Problem A Contemporary Review on Present Status and Future Perspective. 2019.

[13] ESTEVES, S. C. Novel concepts in male factor infertility: clinical and laboratory perspectives. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 33, n. 10, p. 1319–1335, 1 out. 2016.

[14] FAWZY, M. et al. Cytokines hold promise for human embryo culture *in vitro*: results of a randomized clinical trial. Fertility and Sterility, v. 112, n. 5, p. 849- 857.e1, nov. 2019.

[15] FONSECA, G. S. et al. Azan INFERTILIDADE FEMININA E SUAS CAUSAS. **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**, 2 ago. 2023.

[16] FUSI, F. M. et al. GnRH agonists to sustain the luteal phase in antagonist IVF cycles: a randomized prospective trial. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 17, n. 1, p. 103, 29 nov. 2019.

[17] GAMBERA, L. et al. Effects of antioxidant treatment on seminal parameters in patients undergoing *in vitro* fertilization. Archivio Italiano Di Urologia, Andrologia: Organo Ufficiale [di] Societa Italiana Di Ecografia Urologica E Nefrologica, v. 91, n. 3, 2 out. 2019.

[18] HOMBURG, R. IUI is a better alternative than IVF as the first-line treatment of unexplained infertility. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 45, n. 1, p. 1–3, 1 jul. 2022.

[19] HU, L. et al. Efficacy and safety of recombinant human follicle-stimulating hormone in patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer. Aging, v. 12, n. 6, p. 4918–4930, 25 mar. 2020.

[20] IKECHEBELU, J. I. et al. A randomised control trial on oral dydrogesterone versus micronized vaginal progesterone pessary for luteal phase support in *in vitro* fertilization cycles. Journal of Medicine and Life, v. 16, n. 1, p. 62–69, jan. 2023.

[21] JINNO, M. et al. Trapa bispinosa Roxb. extract lowers advanced glycation end-products and increases live births in older patients with assisted reproductive technology: a randomized controlled trial. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 19, n. 1, p. 149, 27 set. 2021.

[22] LI, J. et al. Does growth hormone supplementation improve oocyte competence and IVF outcomes in patients with poor embryonic development? A randomized controlled trial. BMC pregnancy and childbirth, v. 20, n. 1, p. 310, 20 maio 2020.

[23] MORGANTE, G. et al. Ulipristal acetate before *in vitro* fertilization: efficacy in infertile women with submucous fibroids. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 18, n. 1, p. 50, 19 maio 2020.

[24] MUMTAZ, Z.; SHAHID, U.; LEVAY, A. Understanding the impact of gendered roles on the experiences of infertility amongst men and women in Punjab. **Reproductive Health**, v. 10, n. 1, p. 3, 15 jan. 2013.

[25] NOVOSELSKY PERSKY, M. et al. Conventional ICSI vs. physiological selection of spermatozoa for ICSI (picsi) in sibling oocytes. Andrology, v. 9, n. 3, p. 873–877, maio 2021.

[26] OLOOTO, W. et al. A review of Female Infertility; important etiological factors and management. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, p. 379–385, 1 jan. 2012.

[27] PASQUALINI, A. et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of a biosimilar recombinant human follicle-stimulating hormone (Folitime®) vs. Gonal-f® in women undergoing ovarian stimulation for IVF: A randomized, multicenter, evaluator-blinded, non-inferiority study. JBRA assisted reproduction, v. 25, n. 4, p. 524–532, 4 out. 2021.

[28] PELLICER, A. et al. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. **Fertility and Sterility**, v. 70, n. 3, p. 425–431, 1 set. 1998.

[29] POLZIKOV, M. et al. Association of the Serum Folate and Total Calcium and Magnesium Levels Before Ovarian Stimulation With Outcomes of Fresh *In vitro* Fertilization Cycles in Normogonadotropic Women. Frontiers in Endocrinology, v. 13, p. 732731, 2022.

[30] QU, D.; LI, Y. Multiple-dose versus single-dose gonadotropin-releasing hormone agonist after first *in vitro* fertilization failure associated with luteal phase deficiency: A randomized controlled trial. The Journal of International Medical Research, v. 48, n. 6, p. 300060520926026, jun. 2020.

[31] QUAAS, A. M. et al. Endometrial thickness after ovarian stimulation with gonadotropin, clomiphene, or letrozole for unexplained infertility, and association with treatment outcomes. Fertility and Sterility, v. 115, n. 1, p. 213–220, jan. 2021.

[32] RAY, A. et al. Unexplained infertility: an update and review of practice. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 24, n. 6, p. 591–602, 1 jun. 2012.

[33] REVELLI, A. et al. A prospective randomized trial comparing corifollitropin-α late-start (day 4) versus standard administration (day 2) in expected poor, normal, and high responders undergoing controlled ovarian stimulation for IVF. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, v. 37, n. 5, p. 1163–1170, maio 2020.

[34] ROCHA, K. et al. Atualizações sobre a fertilização *in vitro* para reprodução humana / Updates on *in vitro* fertilization for human reproduction. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, p. 3081–3100, 17 fev. 2022.

[35] SANTOS, T. A.; RAMOS, M. M. **Esterilidade e procriação medicamente assistida**. [s.l.] Imprensa da Universidade de Coimbra / Coimbra University Press, 2010.

[36] SILVESTRIS, E.; LOVERO, D.; PALMIROTTA, R. Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, 7 jun. 2019.

[37] SONG, J.-Y. et al. Immediate versus delayed frozen embryo transfer in women following a failed IVF-ET attempt: a multicenter randomized controlled trial. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 19, n. 1, p. 131, 30 ago. 2021.

[38] SOUZA, K. K. P. C. S. P.; ALVES, O. DE F. A. DE F. AS PRINCIPAIS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO**, v. 2, n. 1, p. 26–37, 17 out. 2016.

[39] STEVENS BRENTJENS, L. B. P. M. et al. An integrative analysis of endometrial steroid metabolism and transcriptome in relation to endometrial receptivity in *in vitro* fertilization patients. F&S Science, v. 4, n. 3, p. 219–228, ago. 2023.

[40] SUNDERAM, S. Assisted Reproductive Technology Surveillance — United States, 2016. **MMWR. Surveillance Summaries**, v. 68, 2019.

[41] TANDULWADKAR, S. et al. Medroxyprogesterone Acetate versus Gonadotropin-Releasing Hormone Antagonist for the Prevention of Premature Luteinizing Hormone Surge in hyperresponder women undergoing controlled ovarian stimulation for IVF/ICSI Cycles. JBRA assisted reproduction, v. 27, n. 1, p. 15–19, 30 mar. 2023.

[42] VUONG, L. N. et al. Fresh embryo transfer versus freeze-only after *in vitro* maturation with a pre-maturation step in women with high antral follicle count: a randomized controlled pilot study. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, v. 38, n. 6, p. 1293–1302, jun. 2021.

[43] YANG, R. et al. Comparative clinical outcome following individualized follitropin delta dosing in Chinese women undergoing ovarian stimulation for *in vitro* fertilization /intracytoplasmic sperm injection. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 20, n. 1, p. 147, 4 out. 2022.

[44] YUNG, S. S. F. et al. Hyaluronic acid-enriched transfer medium for frozen embryo transfer: a randomized, double-blind, controlled trial. Fertility and Sterility, v. 116, n. 4, p. 1001–1009, out. 2021.

[45] ZEGERS-HOCHSCHILD, F. et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009†. **Human Reproduction**, v. 24, n. 11, p. 2683–2687, 1 nov. 2009.

[46] ZHANG, Y. et al. Evaluation of GnRH antagonist pretreatment before ovarian stimulation in a GnRH antagonist protocol in normal ovulatory women undergoing IVF/ICSI: a randomized controlled trial. Reproductive biology and endocrinology: RB&E, v. 19, n. 1, p. 158, 12 out. 2021.

Capítulo 5

Análise da soropositividade da hepatite C na cidade de Cascavel e região

Lincon Berlanda Vieira
Luisa Mioto
Silvano Piovan

Resumo: O vírus causador da hepatite (HCV) é um vírus envelopado, de fita RNA simples, pertence à família *Flaviviridae*. Foram identificados cerca de 76 subtipos, sendo que o tipo 1 é o mais prevalente no Brasil. No ano de 2022, foram estimadas cerca de 244 mil mortes por conta do HCV. No Brasil, entre os anos de 2000 e 2022, cerca de 319 mil pessoas foram diagnosticadas com hepatite C, sendo as regiões sul e sudoeste as que apresentaram as maiores taxas encontradas. Dentre as principais formas de transmissão pode-se citar o contato sexual desprotegido, a transmissão parenteral e a transmissão vertical, levando a formas agudas ou crônicas da doença e podendo ocasionar casos de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. O diagnóstico do HCV é realizado através da detecção de anticorpos anti-HCV, por meio de testes rápidos ou imunoensaios e confirmação por testes moleculares. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi verificar a prevalência do HCV em pacientes de Cascavel e região a partir de dados coletados do laboratório municipal de Cascavel. Os resultados mostraram-se consoantes ao exposto na literatura do tema, havendo uma prevalência de infecções de 0,54%. Notou-se, no entanto, uma diferença em relação a outros trabalho no que diz respeito à distribuição da doença por sexo, havendo um predomínio do vírus em pacientes do sexo feminino.

Palavras-chave: epidemiologia; hepatite C; prevalência.

1. INTRODUÇÃO

O vírus causador da hepatite C (HCV) faz parte da família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*. É um vírus envelopado, cujo tamanho varia entre 30 e 40 nanômetros. Uma fita simples de RNA constituí o material genético do vírus. Possui uma grande variabilidade genotípica, havendo cerca de 76 subtipos descritos. No Brasil, o genótipo 1 é o mais presente (Silva *et al.*, 2012).

Estima-se que no ano de 2022, cerca de 244 mil pessoas no mundo todo morrem por conta da hepatite C. Os novos casos de pessoas infectadas pelo HCV somaram 1 milhão. A região das américas é a região menos afetada com casos de infecção crônica pelo HCV, com cerca de 5 milhões de casos (Organização Mundial da Saúde - OMS, 2024).

De acordo com o boletim epidemiológico de hepatites virais, entre os anos 2000 e 2022, cerca de 298.738 pessoas foram diagnosticadas com hepatite C no Brasil. Desse total, 58,3% correspondem à região Sudeste, 27,1% à região Sul, seguido por 7,1% na região Nordeste, 3,8% na região Centro-oeste e por último a região norte com 3,1%. Analisando somente o período entre 2011 e 2022, as regiões Sudeste e Sul apresentaram as maiores taxas de infecções diagnosticadas. Já a taxa de infectados por 100 mil habitantes, em 2022, foi de 6,6 e a região que lidera os casos é a região Sul, com 12,4 casos por 100 mil habitantes (Brasil, 2023).

A infecção pelo HCV pode ser aguda ou crônica. Os casos crônicos apresentam mais de 6 meses de duração e correspondem a cerca de 85% dos casos. Também existe a possibilidade de evolução para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular, casos estes que acometem entre 1% e 5% dos pacientes (Madureira; Tondo; Revers, 2018).

Na década de 80 o tratamento era feito com o interferon-α (INF-α) convencional, sendo administrado uma dose três vezes por semana, que durava de seis a doze meses, apresentando uma taxa de 10% a 15% de remissão sustentada. Associando o INF-α a ribavirina, obteve-se resultados mais satisfatórios. As taxas de resposta virológica sustentada (RVS) foram de 35% a 40% dos pacientes. A RVS indica a ausência do vírus da hepatite C no organismo, após 12 semanas do fim do tratamento (Mello, 2014).

Mais uma evolução no tratamento foi o uso de interferon peguilado (Peg-INF) podendo ser utilizado ou não em associação a ribavirina, porém ele foi substituído por tratamentos posteriores mais eficazes (Côco *et al.*, 2022).

Em 2011 foi introduzido no tratamento os inibidores de protease da região NS3/4 do HCV, representando nos pacientes que estavam realizando o uso pela primeira vez uma taxa de RVS de 65% a 70% e naqueles que já haviam sido tratados cerca de 30% a 55%. A terapia, utilizada até hoje, começou em 201, nos Estados Unidos e na Europa, que são as drogas de segunda geração, como o Simeprevir e o Sofosbuvir, que se mostraram muito superiores às terapias anteriores. A RVS ficou acima dos 90%. Esse tratamento chegou ao Brasil em 2014 e a partir de 2015 já começou a ser distribuído pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (Côco *et al.*, 2022; Mello, 2014).

O HCV era o principal agente causador da hepatite pós-transfusional, porém em 1993 tornou-se obrigatório o teste sorológico para anticorpos anti-HCV em doadores de sangue, tornando esta forma de transmissão rara. A transmissão pode ainda ser sexual, por meio de relações desprotegidas, parenteral, pelo contato com agulhas ou alicates de cutícula contaminados ou qualquer outro material perfuro cortante. A transmissão vertical da mãe para o filho na gestação, na hora do parto ou na amamentação pode também ocorrer (Gardenal *et al.*, 2011; Strauss, 2001).

Como grande parte das pessoas infectadas são assintomáticas, o exame utilizado para o rastreamento desses pacientes é a detecção dos anticorpos anti-HCV, por meio de testes rápidos ou imunoensaios. Para a confirmação de resultados reagentes, utiliza-se o diagnóstico por testes moleculares, sendo o mais comum a reação em cadeia da polimerase mediada por transcrição reversa (RT-PCR) (Duarte *et al.*, 2021).

Diante do exposto, este projeto busca realizar um levantamento detalhado da prevalência de HCV na região de Cascavel, trazendo como hipótese a existência de uma alta taxa dessa infecção nessa região.

2. METODOLOGIA

2.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de uma pesquisa analítica observacional, realizada por meio de estudo retrospectivo. A metodologia empregada é baseada na análise estatística dos dados disponibilizados pelo Laboratório Municipal de Cascavel, o qual atende também outras cidades da região.

2.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Foram considerados critérios para exclusão, pacientes cujos cadastros estão incompletos ou que não possuem prontuários.

Para critério de inclusão, foram selecionados pacientes independentemente de sua faixa etária, de ambos os sexos e que tenham realizado o exame de anti-HCV.

2.3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Foram coletados os dados dos laudos do laboratório municipal de Cascavel do sistema IPM Saúde registrados entre os períodos de 2022 a 2023. As variáveis coletadas foram demográficas (idade e sexo) e resultados do exame anti-HCV (positivo).

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

As comparações entre os grupos foram realizadas usando testes de proporções, compararando a prevalência de HCV entre diferentes grupos etários e sexos. A significância estatística foi avaliada considerando $p < 0,05$. Os intervalos de confiança forneceram as estimativas para dar uma ideia da precisão permitindo discutir as possíveis implicações dos achados na prática clínica e saúde pública. No presente estudo, os dados foram inicialmente organizados e analisados utilizando o Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA), que permitiu a criação de tabelas e estatísticas descritivas e a geração de gráficos preliminares. Para análises estatísticas mais avançadas e a produção de gráficos, foi empregado o GraphPad Prism versão 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1 apresenta uma descrição geral dos dados obtidos pelo levantamento:

Tabela 1 - Distribuição mensal de exames de hepatite C e resultados no Laboratório Municipal de Cascavel nos anos de 2022 e 2023

Mês/ano	Exames de anti-HCV executados (n= 39136)	Resultados negativos (n=38827)	Resultados negativos (n=97)	Resultados positivos (n=212)	Índice de positividade (%)
jan/22	1557	1550	3	4	0,2569
fev/22	1114	1104	5	5	0,4488
mar/22	1601	1594	4	3	0,1874
abr/22	1413	1407	2	4	0,2831
mai/22	1806	1795	2	9	0,4983
jun/22	1495	1476	10	9	0,6020
jul/22	1544	1529	6	9	0,5829
ago/22	1953	1936	11	6	0,3072
set/22	1760	1746	6	8	0,4545
out/22	1620	1603	7	10	0,6173
nov/22	1637	1619	8	10	0,6109
dez/22	1714	1701	2	11	0,6418
jan/23	1838	1826	6	6	0,3264
fev/23	1496	1485	3	8	0,5348
mar/23	1878	1861	5	12	0,6390
abr/23	1389	1375	2	12	0,8639
mai/23	1654	1644	4	6	0,3628
jun/23	1619	1610	1	8	0,4941
jul/23	1712	1696	1	15	0,8762
ago/23	2008	1994	3	11	0,5478
set/23	1655	1639	2	14	0,8459
out/23	1787	1774	1	12	0,6715
nov/23	1459	1448	0	11	0,7539
dez/23	1427	1415	3	9	0,6307

Fonte: próprios autores

É possível observar que o número total de exames realizados entre janeiro de 2022 e dezembro de 2023 foi de 39.136. A quantidade mensal de exames variou de forma considerável, oscilando entre 1.114 (fevereiro de 2022) e 2.008 (agosto de 2023). De modo geral, houve um volume constante de testes realizados, com alguns picos notáveis, como em agosto de 2022 e agosto de 2023.

Constatou-se que a maior parte dos exames apresentou resultados negativos. Dos 39.136 testes realizados, 38.827 foram negativos, representando mais de 99% dos casos. Isso mostra que a grande maioria dos indivíduos testados não estava infectada com hepatite C. Também foram observados 97 resultados inconclusivos durante o período de análise, o que corresponde a uma fração muito pequena (0,24 %) do total de exames. A maior parte dos meses apresentou pouco ou nenhum resultado inconclusivo.

Foram identificados 212 casos positivos de hepatite C ao longo dos 24 meses analisados. Embora esse número seja relativamente pequeno em relação ao total de exames (0,54 %), ele representa os casos confirmados da doença. Os meses com maior número de diagnósticos positivos foram julho de 2023 (15 casos) e setembro de 2023 (14 casos).

Em um estudo semelhante, realizado por Saad e Costa (2020), foram avaliados 1755 exames de anti-HCV, realizados em um laboratório público e outro privado no município de Goiânia e região, onde foi observada uma prevalência de 2,23% e 1,20%

respectivamente. Almeida (2021) avaliou a prevalência da hepatite C na região carbonífera do Rio Grande do Sul e verificou uma prevalência de 2,60%, ao analisar 1136 laudos, entre 2017 e 2018. Ambos

Se analisarmos a nível nacional, de 2000 a 2023, segundo o boletim epidemiológico disponibilizado pelo ministério da saúde, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 318.916 (40,6%) casos confirmados de hepatite C, dentre as outras hepatites virais como A. B e D, ela se mostrou a mais prevalente. Já a nível regional, pensando em um quadro geral contendo todas as hepatites virais, também dos anos de 2000 a 2023, a região sul mostrou-se bastante prevalente, com 27,1% dos casos e fica atrás somente da região sudeste com 58,1%. Ao relacionarmos a doença com a taxa de óbitos de 2000 a 2022 causada por ela, o número dispara entre as outras hepatites, com 75,9% (Brasil, 2024).

Isolando somente a hepatite C, entre os anos de 2013 e 2023, a região sul e sudeste durante o período apresentaram as maiores taxas, com cerca de 15,2 e 9,3 casos por 100 mil habitantes, respectivamente. A média do país em 2023 foi de 7,6 casos por 100 mil habitantes. Desta forma, as regiões sul e sudeste ficaram acima da média nacional (Brasil, 2024).

Dentre os 308 pacientes que tiveram resultado reagente para o teste de anti-HCV, observou-se que cerca de 165 (53,57%) eram do sexo feminino, enquanto 143 (46,43%) eram do sexo masculino. Quanto à idade dos indivíduos analisados neste estudo, pode se observar uma idade média de 46,59 ± 15,97 anos. De forma comparada, a idade média dos pacientes do sexo masculino e feminino, não variou de forma expressiva, sendo 44,71 ±16,44 e 48,77±15,18 anos, respectivamente.

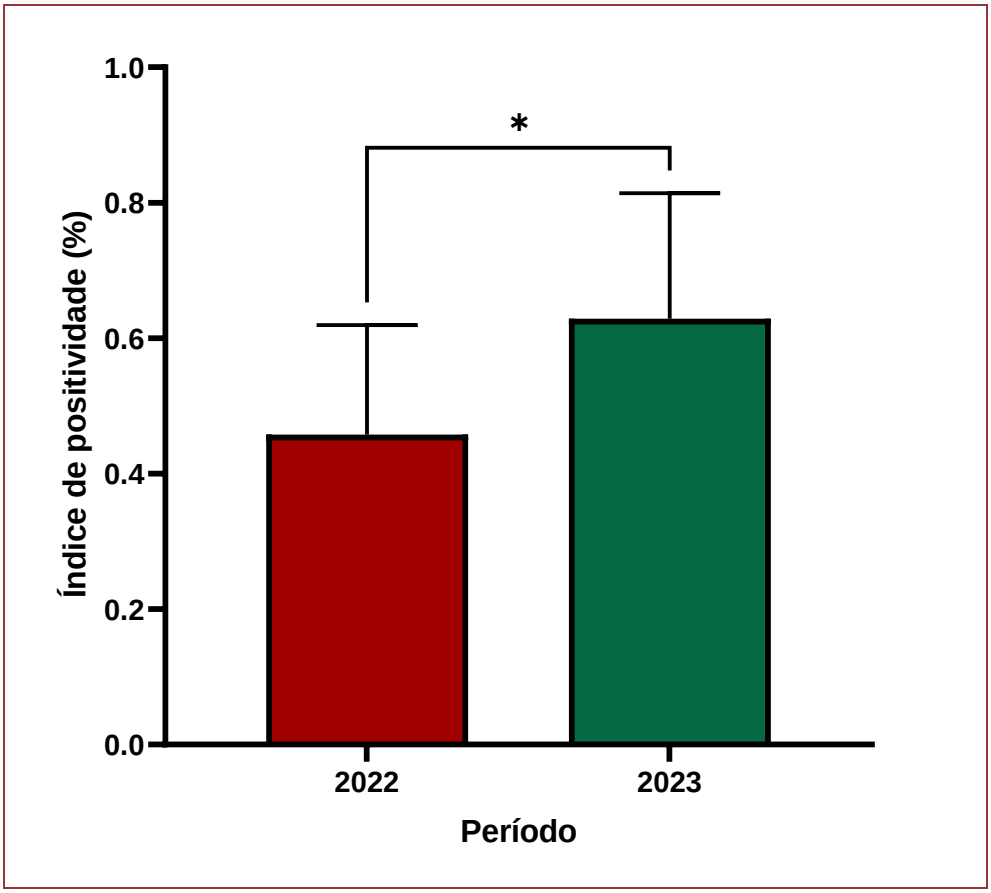
Quando comparada a prevalência de casos por sexo em outros municípios, nota-se uma diferença entre a distribuição dos casos. Conforme avaliado em um estudo realizado por Margreiter et al. (2015), utilizando dados do SINAN, de 2008 a 2012, no município de Palhoça, no estado de Santa Catarina, dos 275 pacientes, 185 eram positivos para hepatite C. Desses 45,41% eram mulheres e 54,59% eram homens.

Em um outro estudo realizado também na cidade de Cascavel por Berton e Cavalli (2020), utilizando dados de notificações enviados ao departamento de vigilância epidemiológica do próprio município, foram constatados 1.387 casos de hepatite B e C, no período de 2013 a 2017. Desses 412 foram positivos para o tipo C, sendo que 228 (55,33%) eram homens e 184 (47,67%) eram mulheres.

De acordo com Morais e Oliveira (2015), que analisaram 321 pacientes em Vitoria da Conquista na Bahia, de 2003 a 2014, a maioria dos pacientes infectados pela doença apresentavam idade de 46 a 56 anos, o que se mostra condizente ao encontrado nessa pesquisa, onde a média de idade foi 46,59 ± 15,97 anos. Esse fator pode estar relacionado ao curso da doença, uma vez que a maioria dos pacientes são assintomáticos, levando à descoberta da doença apenas em estágios mais avançados, o que ocorre, de maneira geral, depois de um longo tempo de infecção silenciosa.

O ano de 2023 apresentou um aumento significativo ($p = 0,0245$) no índice de positividade em comparação a 2022 (Figura 1), com mais meses superando a marca de 5%. Embora o número total de exames não tenha variado drasticamente, a proporção de casos positivos aumentou nos últimos meses do período analisado, sugerindo uma possível piora na situação epidemiológica local.

Figura 1. Comparação entre os índices de positividade nos anos de 2022 e 2023. Teste *t* de Studant (* p < 0,05).



O índice de positividade (Figura 2), que indica a porcentagem de resultados positivos em relação ao total de exames realizados, variou significativamente ao longo dos meses, com o valor mais alto (8,76%) em julho de 2023 (p = 0,036), e o menor (0,18%) em março de 2022 (p = 0,022). Em outros períodos a frequência de distribuição também apresenta significância: em agosto de 2022 (p = 0,046), assim como janeiro e março de 2023 (p = 0,042), foi observada uma queda estatisticamente expressiva no índice. Enquanto em abril de 2023 (p = 0,040), constatou-se um aumento importante no número de casos. Isso demonstra flutuações na taxa de infecções confirmadas, com alguns períodos de aumento expressivo na taxa de positividade, especialmente no segundo semestre de 2023.

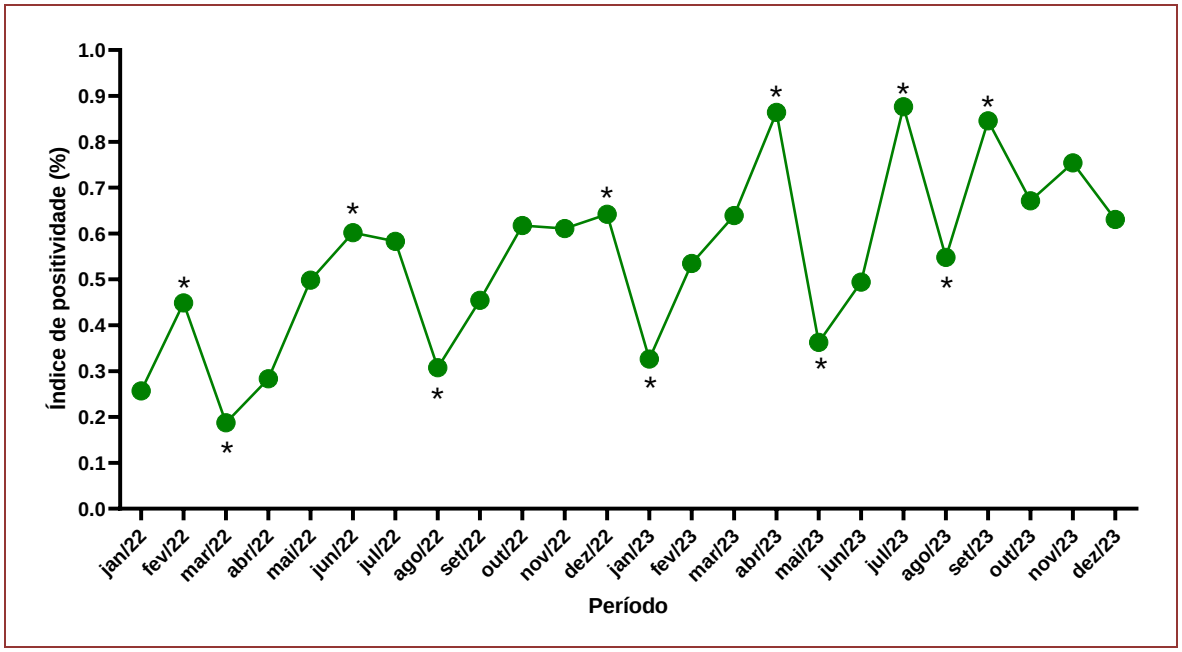
O aumento no número de casos de hepatite C pode estar relacionado a mudança nos critérios para considerar um paciente positivo para a doença. Antes de 2015 era necessário apresentar dois marcadores positivos, o anti-HCV e o HCV-RNA, porém, a partir de 2015, apresentando apenas um dos marcadores positivos passou a ser considerado um caso positivo da doença. Isso pode explicar o aumento no número de casos (Brasil, 2024).

O HCV possui uma grande variedade genotípica, o que dificulta muito a produção de uma vacina. Juntamente com o desenvolvimento tardio dos sintomas, os pacientes infectados continuam a disseminar o vírus, pois não sabem que são portadores. Os hábitos de vida que atingiram grande parte da população brasileira também estão relacionados

ao crescente número de infecções, como o uso de drogas intravenosas e relações sexuais com mais de um parceiro (Oliveira *et al.*, 2021).

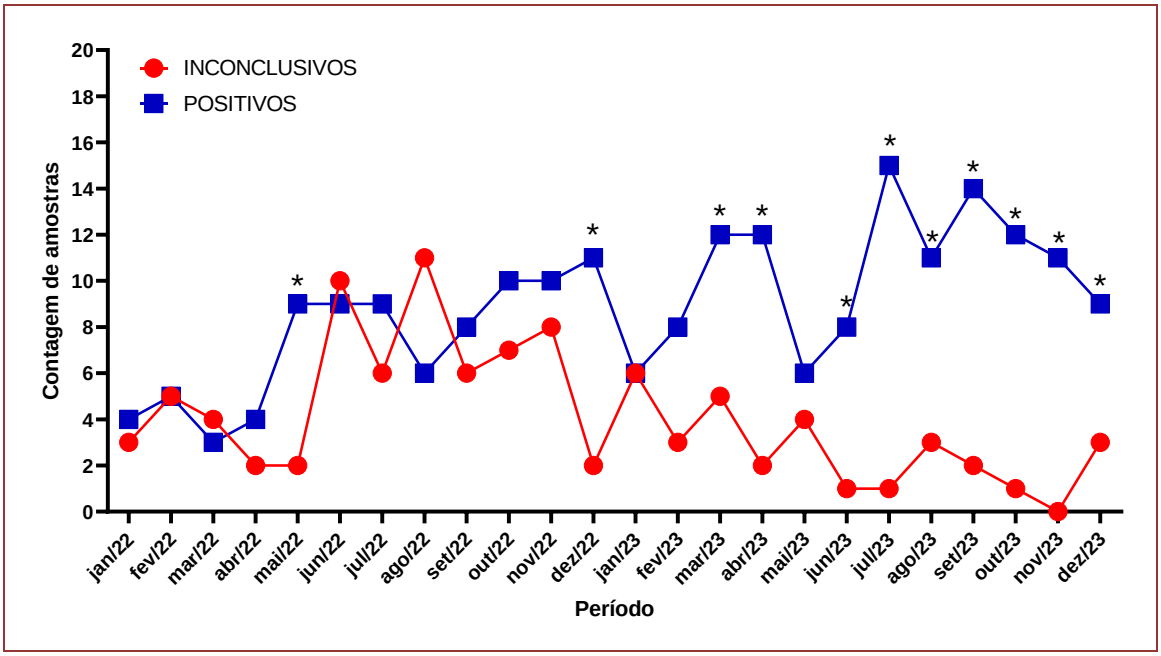
As maiores taxas de infecção pelo HCV são detectadas na região Sul e Sudeste do país, que possuem um alto desenvolvimento socioeconômico e maior oferta de serviços de saúde, também concentram 40,9% da população do país. O acesso a cuidados de saúde nessas regiões são mais facilitados, possibilitando assim uma maior testagem desses pacientes e consequentemente maiores taxas de diagnóstico (Ferreira, 2023).

Figura 2. Distribuição mensal dos índices de positividade de HCV nos anos de 2022 e 2023. Teste ANOVA e Kruskal-Wallis (* p < 0,05).



Durante o período analisado, os resultados inconclusivos foram uma pequena fração dos exames realizados, enquanto os positivos, embora também minoritários, apresentaram maior variação. Em vários meses, como julho de 2023, observamos um número significativamente maior (p = 0,001) de resultados positivos (15 casos) em relação aos inconclusivos (1 caso). Esse padrão também se repetiu em outros meses, como maio e dezembro de 2022 (p = 0,041 e p = 0,035, respectivamente) e setembro de 2023 (p = 0,025), conforme observado na figura 3.

Figura 3. Comparação entre os casos inconclusivos e positivos, mês a mês nos anos de 2022 e 2023. Teste ANOVA e Kruskal-Wallis (* p < 0,05).



Em 2023, a diferença entre inconclusivos e positivos se acentuou, com um aumento nos casos positivos e manutenção dos inconclusivos em baixos níveis.

Essa diferença tem muitas implicações para a saúde pública, como em custos com medicações para o tratamento e hospitalização desses pacientes, já que a infecção pode evoluir para casos mais graves, como o carcinoma hepatocelular, cirrose e até mesmo necessidade de um transplante de fígado. Pacientes mais graves também perdem a capacidade de trabalhar, implicando, deste modo, na economia do país. Estratégias de controle já vem sendo aplicadas no Brasil, como o acesso gratuito a medicação e elaboração de programas de triagem dos pacientes, com objetivo de diagnosticar precocemente a infecção e evitar a progressão para casos mais graves (Reis *et al.*, 2024).

4. CONCLUSÃO

A infecção pelo vírus da hepatite C é um problema de saúde pública nacional, gerando altos custos para o sistema público de saúde, sobrecarregando-o, e para a economia do país. Embora ainda não existam vacinas eficientes contra o HCV, é de suma importância o desenvolvimento de campanhas públicas para testagem e conscientização da população acerca do problema.

Como pode ser observado, as regiões sul e sudeste seguem liderando o ranking nacional de casos. Contudo, isso pode indicar uma baixa testagem e notificação nas outras regiões. Estudos como este são de extrema valia para a avaliação da eficácia das ações públicas em relação ao tema e, por tanto, novos estudos fazem-se necessários, principalmente nas regiões norte, nordeste e centro-oeste.

No município alvo deste estudo, observou-se que a prevalência do vírus da hepatite C encontra-se dentro dos valores relatados na literatura. Isso indica uma eficácia das políticas públicas no combate a hepatite C.

REFERÊNCIAS

[1] ALMEIDA, C. V. Prevalência sorológica do vírus da Hepatite C na região carbonífera do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [*s. l.*], v. 53, n. 1, 2021. Disponível em: https://www.rbac.org.br/artigos/prevalencia-sorologica-do-virus-da-hepatite-c-na-regiao-carbonifera-do-rio-grande-do-sul/. Acesso em: 13 out. 2024.

[2] BRASIL, Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, Hepatites Virais. Secretaria de Vigilância em Saúde, Jul. 2024. Disponível em: https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2024/boletim-epidemiologico-hepatites-virais-2024/view. Acesso em: 25 out. 2024.

[3] CÔCO, L. T. *et al.* Fatores associados à adesão ao tratamento da hepatite C: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, [*s. l.*], v. 27, p. 1359–1376, 2022. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/csc/2022.v27n4/1359-1376/pt/. Acesso em: 4 abr. 2024.

[4] DUARTE, G. *et al.* Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: hepatites virais. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [*s. l.*], v. 30, p. e2020834, 2021. Disponível em: https://www.scielo.br/j/ress/a/tdp58qj9X5WC6VfbQ3pxJpS/?lang=pt. Acesso em: 16 abr. 2024.

[5] FERREIRA, F. L. dos S. Análise espacial dos casos notificados de Hepatite C no Brasil, segundo macrorregiões de saúde, 2015 a 2020. [*s. l.*], 2023. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/63785. Acesso em: 25 out. 2024.

[6] GARDENAL, R. V. C. *et al.* Hepatite C e gestação: análise de fatores associados à transmissão vertical. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [*s. l.*], v. 44, p. 43–47, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/b5hFCHsScsCpZPfg34T7KyJ/?lang=pt. Acesso em: 4 abr. 2024.

[7] GLOBAL HEPATITIS REPORT 2024: ACTION FOR ACCESS IN LOW- AND MIDDLE-INCOME COUNTRIES. 1st eded. Geneva: World Health Organization, 2024.

[8] MADUREIRA, E. M. P.; TONDO, M. C.; REVERS, A. F. L. Estudo de caso da história natural da hepatite C no oeste do Paraná. **Revista Thêma et Scientia**, [*s. l.*], v. 8, n. 1, p. 254–263, 2018. Disponível em: https://themaetscientia.fag.edu.br/index.php/RTES/article/view/949. Acesso em: 4 abr. 2024.

[9] MELLO, C. E. B. Tratamento da hepatite crônica pelo vírus C. [*s. l.*], v. 102, n. 1, 2014.

[10] OLIVEIRA, A. M. L. de *et al.* ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA HEPATITE C NO BRASIL. **Saber Científico (1982-792X)**, [*s. l.*], v. 4, n. 2, p. 17–21, 2021. Disponível em: https://periodicos.saolucas.edu.br/index.php/resc/article/view/1172. Acesso em: 25 out. 2024.

[11] REIS, B. V. dos *et al.* O IMPACTO DA HEPATITE C NO SISTEMA PÚBLICO DE SAÚDE BRASILEIRO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **RICS - Revista Interdisciplinar das Ciências da Saúde**, [*s. l.*], v. 1, n. 1, p. 1–14, 2024. Disponível em: https://www.ricsjournal.com/index.php/rics/article/view/12. Acesso em: 25 out. 2024.

[12] SAAD, F. G. A.; COSTA, S. H. N. Estudo comparativo de prevalência de Hepatite C entre laboratório público e privado do estado de Goiás, Brasil. **REVISTA BRASILEIRA MILITAR DE CIÊNCIAS**, [*s. l.*], v. 6, n. 16, 2020. Disponível em: https://rbmc.emnuvens.com.br/rbmc/article/view/67. Acesso em: 24 out. 2024.

[13] SILVA, A. L. da *et al.* Hepatites virais: B, C e D: atualização. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd**, [*s. l.*], 2012. Disponível em: http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2012/v10n3/a2889.pdf. Acesso em: 4 abr. 2024.

[14] STRAUSS, E. Hepatite C. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [*s. l.*], v. 34, p. 69–82, 2001. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/9YJQG633PW9FMF7Bcb7s48c/?format=html. Acesso em: 4 abr. 2024.

Capítulo 6

Análise de reações transfusionais em pacientes oncológicos: subnotificação, sintomas e desafios da hemovigilância

Adrieli Franceschetto
Ana Olívia Stocker
Silvano Piovan

Resumo: A transfusão sanguínea é amplamente utilizada em diversos procedimentos terapêuticos, entre eles, no tratamento de pacientes oncológicos que utilizam quimioterapia. O presente estudo tem como objetivo examinar as reações transfusionais em pacientes oncológicos que receberam hemocomponentes entre 2022 e 2023, com foco na segurança e na eficiência da hemovigilância. Durante o período analisado, foram realizadas 44.567 transfusões no hospital, com uma taxa de reações de apenas 0,07%, considerada muito baixa. Esse dado sugere uma possível subnotificação, possivelmente causada pela confusão entre sintomas das reações e efeitos colaterais de tratamentos oncológicos como a quimioterapia. O estudo coletou dados demográficos e clínicos, como idade, sexo, tipo sanguíneo, sintomas, gravidade e tempo de manifestação das reações. A análise mostrou que a maioria das reações foi de grau leve, com predomínio em mulheres e em pacientes com tipo sanguíneo O positivo. Os sintomas mais comuns incluíram febre, prurido, calafrios e tremores, e não foi observada uma correlação clara entre tipo sanguíneo e gravidade das reações. Além disso, a maioria das reações ocorreu imediatamente após a transfusão. O estudo identificou falhas no preenchimento das Fichas de Incidentes Transfusionais e recomenda treinamento intensivo para os profissionais, além da implementação de monitoramento ativo dos pacientes, visando melhorar o registro e a identificação das reações transfusionais, especialmente em um contexto oncológico de alta complexidade.

Palavras-chave: Transfusão, notificação, reações adversas.

1. INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue é amplamente utilizada em procedimentos terapêuticos, sendo seu principal uso em pacientes acometidos por coagulopatias, hemorragias de grande volume e pacientes oncológicos que utilizam quimioterapia (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2015). Os hemocomponentes utilizados são obtidos através do sangue total, sendo assim, após a coleta, a bolsa será processada para a obtenção de componentes eritrocitários, plasmáticos e plaquetários (Brasil, 2016).

Esses componentes, apesar de passarem por todos os cuidados necessários, ainda podem acarretar em reações transfusionais nos pacientes, sendo que, essas são respostas involuntárias que acometem os pacientes receptores dos hemocomponentes sendo caracterizadas como reações adversas e classificadas segundo o grau do dano causado, podendo ser tanto leve como urticária, tontura e enjoo, quanto graves levando ao óbito (Brasil, 2016). Essas reações ocorrem devido alguns fatores como erro na identificação do paciente ou amostra, presença de anticorpos irregulares na bolsa, fatores intrínsecos relacionados ao paciente (ANVISA, 2022). Podendo ocorrer de 3% a 10% das transfusões sanguíneas, sendo dessas as reações graves mais raras, e as reações leves e imediatas mais frequentes. As reações também são classificadas como imediatas que ocorrem durante a transfusão ou até 24 horas, e a tardia que ocorre após 24 horas (Grandi *et al*. 2021).

A hemovigilância é um sistema de avaliação e alerta que tem como objetivo trazer uma maior segurança nas transfusões sanguíneas, recolhendo e avaliando informações dos efeitos indesejados e inesperados do uso dos hemocomponentes. Assim que identificado uma reação é iniciada uma investigação e realizada a notificação via sistema NOTIVISA, a investigação passa por vários processos para identificação da causa da reação. A partir de alguns sintomas e sinais é possível identificar a causa inicial e realizar a terapêutica adequada para o caso com base nos critérios estabelecidos pela ANVISA (Bueno, Milani e Soares, 2019).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2022), câncer significa um conjunto de mais de 100 doenças que se assemelham pelo crescimento desordenado de células mutantes que podem invadir tecidos ou órgãos. Os avanços nos estudos sobre o câncer, a oncologia, permitiu o desenvolvimento de tratamentos como cirurgias, radioterapias, terapia hormonal e quimioterapia (Klar, *et al.* 2019). Esses tratamentos melhoraram significativamente a taxa de sobrevivência dos pacientes (Amani *et al*. 2024).

Entretanto, a quimioterapia não causa a destruição apenas das células malignas, mas também de outras células, incluindo células sanguíneas, por esse motivo, pacientes oncológicos necessitam de transfusões sanguíneas, e são classificados como grupo de risco para reações adversas (Lenke e Maciel, 2022).

Diante dos dados abordados anteriormente, esse trabalho realizou um levantamento de dados que permitiu examinar as reações transfusionais em pacientes oncológicos que receberam hemocomponentes e avaliar as Fichas de Incidentes Transfusionais (FIT's) e verificar seu correto preenchimento e a existência de inconsistências, de forma a orientar o local de estudo para que sejam corrigidos possíveis erros e evitadas complicações.

2. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal, documental, de abordagem quantitativa, com dados obtidos através dos registros do Comitê Transfusional do CEONC. Trata-se de um estudo retrospectivo e descritivo acerca das hemotransfusões e reações transfusionais que aconteceram em pacientes no período de 2022 a 2023.

Foram considerados como critérios de inclusão, todos os pacientes que fizeram uso de hemocomponentes e, por consequência, tiveram alguma reação descrita em seu prontuário. Este estudo prevê e inclui todos os pacientes de ambos os sexos, de 18 a 60 anos que tiveram alguma reação pós transfusão no período de 01 de janeiro de 2022 a 31 de dezembro de 2023.

Destes, foram excluídos pacientes com dados incompletos e registro de incidentes tardios ou notificações em que os sinais e sintomas relatados não foram correlacionados aos sintomas descritos por este projeto.

A análise de dados do estudo foi realizada de forma quantitativa e descritiva. Inicialmente, os dados foram coletados a partir das Fichas de Incidentes Transfusionais (FITs) do hospital e organizados em planilhas no Excel para controle e análise. As variáveis coletadas incluíram idade, sexo, sinais e sintomas, tempo de manifestação clínica (classificação em reações imediatas ou tardias), gravidade da reação, sistema ABO e fator Rh, tipo e quantidade de hemocomponentes administrados, além do tipo e localização do tumor.

Para a análise estatística, os dados foram processados com o software GraphPad Prism. As variáveis numéricas foram descritas com medidas de tendência central e variabilidade, enquanto a aderência à distribuição normal foi avaliada com base em assimetria e curtose (entre -2 e +2). A associação entre variáveis categóricas, como tipo sanguíneo e gravidade das reações, foi testada usando o teste de qui-quadrado de Pearson ou o teste Exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Com esses métodos, o estudo explorou possíveis associações entre o tipo sanguíneo, a quantidade de hemocomponentes transfundidos e a ocorrência de reações, além de avaliar a prevalência de sintomas e a gravidade das reações entre os pacientes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de 2022 e 2023, foram realizadas aproximadamente 44.567 transfusões no hospital, sendo que, dessas, houveram apenas 34 reações notificadas, o que equivale a 0,07%. A incidência destas reações foi considerada baixa, sendo que a ANVISA descreve que são esperadas de 3 a 5 reações a cada 1.000 transfusões realizadas (ANVISA, 2015).

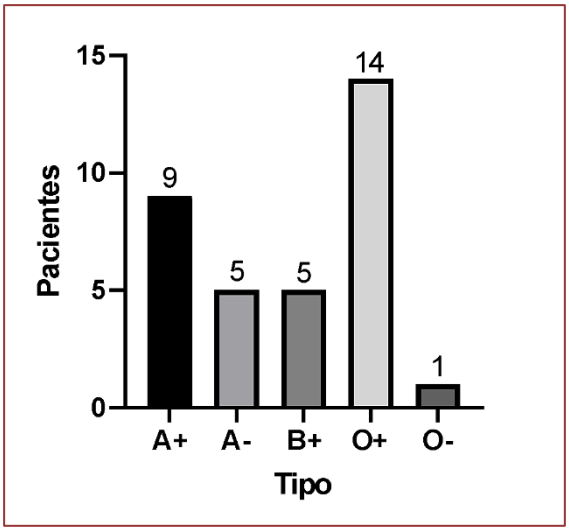
Assim, acredita-se que nesta unidade hospitalar da agência transfusional as subnotificações sejam recorrentes, apesar dos cuidados e precauções tomadas nos últimos anos, e treinamentos realizados na equipe, existem sintomas tardios que acabam sendo confundidos e não relatados como reação transfusional.

Segundo Gonçalves (2018) é indispensável a realização de visitas pós-transfusionais para busca ativa de reações transfusionais imediatas e investigação dos casos junto a equipe de trabalho, de modo a evitar subnotificações e relatar a equipe os motivos e formas de resolver este problema. Identificou-se em seu estudo reações febris

não hemolíticas, reações alérgicas e sobrecarga circulatória associada a transfusão que não foram notificadas, sendo esta numa frequência de 11,8% dos casos.

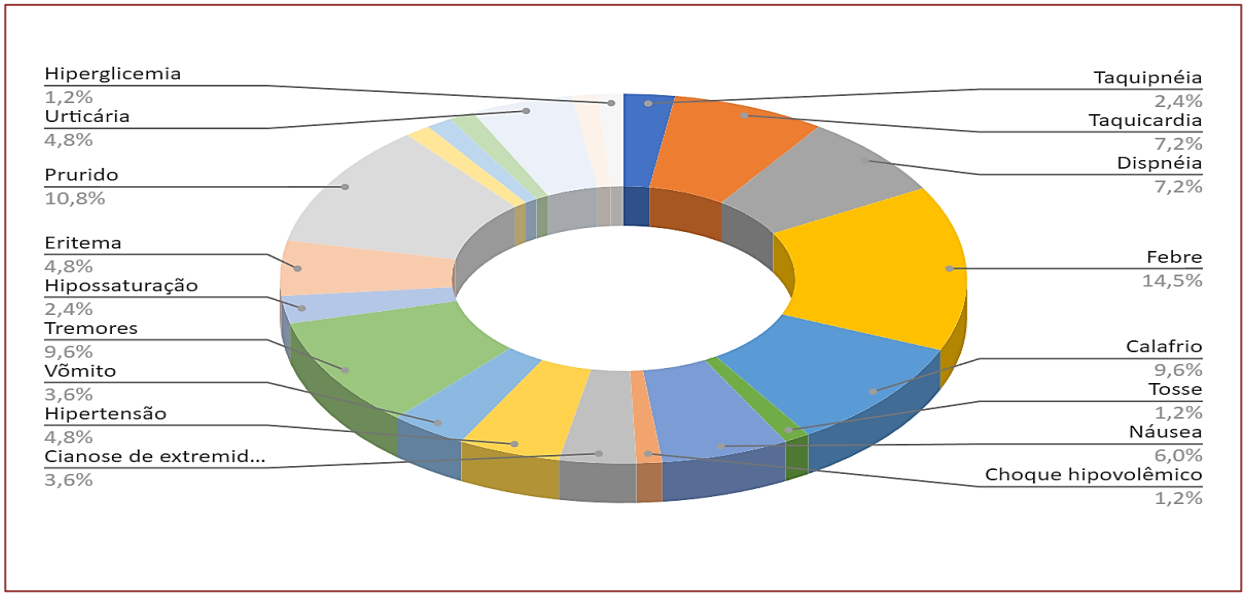
Com base nos dados coletados, foi possível analisar a correlação (teste qui-quadrado) do tipo sanguíneo com a ocorrência de manifestações durante a transfusão sanguínea. Observou-se que há significância (p = 0,001) neste fator, sendo o tipo O positivo o mais frequente (41,17%), o tipo O negativo aquele com menor frequência (2,94%) e não foram encontrados pacientes com os tipos sanguíneos B negativo, AB positivo e AB negativo. Vieira e Dexheimer (Vieira, Dexheimer, 2022) em contrapartida relataram que o tipo sanguíneo mais frequente foi o A positivo (41%), com menor frequência o tipo AB positivo (1,5%), e não tiveram pacientes com os tipos B negativo e AB negativos. Não foi observada uma correlação direta entre os tipos sanguíneos e os demais fatores como, sintomas, tempo de manifestação e gravidade da reação (p > 0,05). A figura 1 mostra a distribuição dos pacientes que sofreram reações transfusionais, estratificados conforme o tipo sanguíneo.

Figura 1. Distribuição da ocorrência de reações transfusionais conforme o tipo sanguíneo.



Os sintomas variam de acordo com a gravidade e o momento da reação, mas não apresentam um padrão claro de associação com o tipo sanguíneo (p = 0,076). A figura 2 demonstra os sintomas relatados em FIT's que ocorreram durante as reações transfusionais:

Figura 2. Sintomas relatados durante as transfusões realizadas em um Hospital Oncológico no Oeste do Paraná.



Avaliou-se os sintomas relatados e constatou-se que febre (14,5%), prurido (10,8%), calafrios e tremores (ambos com 9,6%) foram os sintomas mais descritos. Outros estudos relataram que os pacientes apresentaram como manifestações clínicas mais comuns febre e calafrios, o que correlaciona-se com o presente estudo. Como sintomas menos descritos encontram-se com 1,2% hiperglicemia, choque hipovolêmico e tosse (Souza-Neto, 2010; Macedo, Silveira E Athayde, 2016).

Foi observado que as reações de Grau I (leves) são as mais predominantes entre os pacientes (91,18 %), estando associadas a reação febril não hemolítica com sintomas que incluem febre, eritema, prurido, calafrios e tremores. Já as reações de Grau II (moderadas) foram observadas em apenas 3 pacientes (8,82 %) com tipos sanguíneos A negativo e B positivo estão associadas a sintomas mais graves como choque hipovolêmico, cianose e dispneia durante a transfusão. Apesar de não haver uma correlação fortemente significativa (p = 0,058), há algumas tendências sutis que indicam que pacientes com tipo sanguíneo A negativo podem estar mais propensos a reações mais graves. Para confirmar essas tendências, seria necessário um conjunto de dados maior para validar a análise. Não há casos registrados de Grau III (reação severa) ou de maior gravidade nos dados apresentados. O estudo de Ascari *et al*. (2020) e de Grandi *et al*. (2021) mostraram a prevalência das reações de grau I (leves) sendo 21 (87,5%) e (86,5%), grau II (moderadas) 3 (12,5%) e Grau II e III (13,5%) respectivamente, sendo que no estudo de Ascaris não houve nenhum registro de reações graves.

O tempo das manifestações, variando entre o período imediato ou após o término da transfusão, também não mostra uma correlação direta com o tipo sanguíneo (p = 0,088). As reações, independentemente da gravidade ou tipo sanguíneo, ocorreram em 31 (91,18%) pacientes durante a transfusão (imediato) e em 3 (8,82%) pacientes após o término (tardio). Essa distribuição de tempo parece ser mais influenciada pela resposta individual do paciente do que por qualquer outro fator como o tipo sanguíneo, pois tanto reações leves quanto moderadas ocorreram em diferentes fases da transfusão em

pacientes com tipos sanguíneos variados. Concordando com os dados obtidos nessa pesquisa, Freitas (2021) mostrou que 95,71% das reações foram imediatas, já Grandi *et al*. (2021) relata uma variação da frequência das reações imediatas dependendo da gravidade da reação.

Em alguns casos, como em pacientes com tipo A^+, a quantidade de bolsas transfundidas (por exemplo, duas ou três bolsas de concentrado de hemácias - CH) não parece influenciar a gravidade da reação ($p = 0,12$), já que tanto reações leves quanto moderadas ocorreram independentemente da quantidade transfundida. Entretanto, a alta quantidade de bolsas recebidas por pessoa, acende um alerta nos sistemas de saúde, exigindo que estes incluam protocolos de hemovigilância, já que, receptores politransfundidos tendem a ter um risco e exposição maiores de reações e de doenças transmissíveis decorrentes da transfusão, quando comparados aqueles que receberam apenas uma bolsa. (ANVISA, 2007; Brasil, 2015).

O hemocomponente concentrado de hemácias (CH) apresenta-se como o mais prevalente nas reações transfusionais, o que se justifica pelo alto uso deste, sendo o mais recomendado, o que se comprova em diversos estudos (Silva, 2021; Belem *et al*., 2010; Durães *et al*., 2013; Bueno *et al*., 2019), os quais colocam o CH como o hemocomponente mais transfundido e relacionado com as reações transfusionais.

A partir da análise dos dados foi possível identificar uma maior ocorrência de reações no sexo feminio, de 34 pacientes avaliados, 23 (67,65%) eram mulheres e 11 (32,35%) homens. Analisando a faixa etária dos pacientes percebeu-se que esta variava entre 19 à 93 anos, tendo uma idade média de 54,52 anos. Saito (2024) chegou ao mesmo resultado que a presente pesquisa tendo um predominio de reações em pacientes do sexo feminino (55,6%). Já o estudos realizado em um hospital terciário obtiveram resultados opostos, tendo uma maior ocorrencia no sexo masculino do que no feminio, assim correspondedo a 10 (62,5%) homens e 6 (37,5%) mulheres, tendo uma faixa etaria entre os pacientes de 45,62 anos, variando entre 21 a 61 anos (Lucchini, *et al*, 2022).

4. CONCLUSÃO

A análise realizada neste estudo evidencia a prevalência de reações transfusionais em pacientes oncológicos submetidos à transfusão de hemocomponentes, com maior incidência entre mulheres e em pacientes com tipos sanguíneos específicos, como o tipo O positivo. A baixa incidência de reações transfusionais notificada, em comparação com o índice esperado, sugere a possibilidade de subnotificação, evidenciando a necessidade de estratégias de hemovigilância mais robustas e de uma maior conscientização da equipe de saúde quanto à importância do correto preenchimento das Fichas de Incidentes Transfusionais (FITs).

A maior parte das reações foi leve (Grau I), consistindo em febre, eritema e prurido, e ocorreu durante a transfusão, sem correlação significativa com o tipo sanguíneo ou a quantidade de bolsas transfundidas. Essa predominância de reações leves sugere que, embora os pacientes oncológicos sejam de fato um grupo de risco, as transfusões são, em sua maioria, seguras quando realizadas com os devidos cuidados.

Outrossim, foi possível identificar falhas no preenchimento das FITs, trazendo a necessidade de maior atenção da parte dos profissionais envolvidos nos procedimentos de transfusões, tanto na identificação das reações transfusionais como no seu registro. Sugere-se que sejam treinadas as equipes de forma mais intensiva de forma que estes

saibam identificar e diferenciar estes sintomas, e os pacientes sejam monitorados na forma de busca ativa, para que os erros não sejam mais negligenciados.

REFERÊNCIAS

[1] AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Boletim de Hemovigilância n. 7. BrasíliaMinistério da Saúde, 2015. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/monitoramento/hemovigilancia/boletim-de-hemovigilancia-no-7.pdf . Acesso em : 23 de out. 2024.

[2] AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Hemovigilância: manual técnico para investigação das reações transfusionais imediatas e tardias não infecciosas. BrasiliaMinistério da Saúde, 2007. Disponível em: https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/manual_tecnico_hemovigilancia_08112007.pdf. Acesso em: 23 de out. 2024.

[3] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Marco conceitual e operacional de hemovigilância: guia para hemovigilância no Brasil.Brasília: ANVISA. (2015). Disponível em: https://bibliotecadigital.anvisa.gov.br/jspui/bitstream/anvisa/1216/1/Marco%20Conceitual%20e%20Operacional%20de%20Hemovigil%c3%a2ncia%20-%20Guia%20para%20a%20Hemovigil%c3%a2ncia%20no%20Brasil.pdf. Acesso em: 15 de mar. 2024.

[4] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Manual para o Sistema Nacional de Hemovigilância no Brasil. Brasília, 2022. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/monitoramento/hemovigilancia/manual_de_hemovigilancia__dez22_compressed.pdf Acesso em: 10 de mar. 2024.

[5] AMANI, Omid *et al*. Chemotherapy-induced cognitive impairment in breast cancer survivors: A systematic review of studies from 2000 to 2021. **Cancer Reports**, v. 7, n. 2, p. e1989, 2024. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10864736/#cnr21989-bib-0004 Acesso em: 30 de mar. 2024.

[6] ASCARI, Rosana Amora *et al*. USO DE HEMOCOMPONENTES E REAÇÕES TRANSFUSIONAIS NA ÁREA DE ONCOLOGIA. **I Simpósio Sul Brasileiro de Oncologia Clínica e Cirúrgica**, v. 1, n. 1, 2020. Disponível em: https://portaleventos.uffs.edu.br/index.php/SSBOCC/article/view/13567 . Acesso em: 23 de out. 2024.

[7] BELÉM, L. de F., Nogueira, R. G., Leite, T. R., Costa, L. C., Alves, L. D. F. P., & Carneiro, I. S. (2010). Descrição de reações transfusionais imediatas na Fundação Assistencial da Paraíba, Brasil. Revista Baiana de Saúde Pública, 34(4), 810-810. Disponível em: https://rbsp.sesab.ba.gov.br/index.php/rbsp/article/view/74 . Acesso em: 23 de out. 2024.

[8] BERTOLAZZI, Luana Gaino *et al*. Incidência e caracterização de reações adversas imediatas à infusão de quimioterápicos em hospital sentinela. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 3, p. 84-90, 2015. Disponível em: https://repositorio-racs.famerp.br/racs_ol/vol-22-3/Incid%C3%AAncia%20e%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20de%20rea%C3%A7%C3%B5es%20adversas%20imediatas%20%C3%A0%20infus%C3%A3o%20de%20quimioter%C3%A1picos%20em%20hospital%20sentinela.pdf. Acesso em: 12 mar. 2024.

[9] BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria n° 158, de 4 de fevereiro de 2016. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0158_04_02_2016.html. Acesso em: 26 de mar. 2024.

[10] BRASIL. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA E TEMÁTICA. Guia para Uso de Hemocomponentes. BrasiliaMinistério da Saúde, 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf . Acesso em: 23 de out. 2024.

[11] BUENO, Cyntia Soares; DE SOUZA MILANI, Caren Leticia; DE LIMA SOARES, Sheila Carminati. Epidemiologia das reações transfusionais imediatas notificadas em um hospital de alta complexidade no interior de Rondônia. **Revista Recien-Revista Científica de Enfermagem**, v. 9, n. 25, p. 77-84, 2019. Disponível em: https://www.recien.com.br/index.php/Recien/article/view/186 . Acesso em: 23 de out. 2024

[12] DA SILVA BORGES, Maihara; SALLES, Marcela Miranda; CAMUZI, Ranieri Carvalho. Perfil das reações adversas imediatas à infusão de quimioterapia em pacientes ambulatoriais em um Hospital

Universitário fluminense. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e416101523009-e416101523009, 2021. Disponível em : https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/23009 . Acesso em 18 de mar. 2024.

[13] DURÃES, A. T. G., Pereira, L. B., Ponciano, M. M., & Versiani, C. C. (2013). A incidência de reações transfusionais imediatasem pacientes receptores em um hospital universitário. EFDeportes. com. RevistaDigital, 176(1), 1-1. Disponível em:https://www.efdeportes.com/efd176/a-incidencia-de-reacoes-transfusionais-imediatas.htm. Acesso em: 23 de out. 2024.

[14] FREITAS, Isabela Fontinele Costa. Reações adversas transfusionais: análise retrospectiva dos dados do sistema brasileiro de hemovigilância. 2021. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/32829/1/2021_IsabelaFonteneleCostaFreitas_tcc.pdf Acesso em: 20 mar. 2024.

[15] GONÇALVES, L. A. L. Hemovigilância – investigação de reação transfusional imediata. Hemovigilância – investigação de reação transfusional imediata, Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), p. 101, 2018. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-18072018-171647/en.php . Acesso em: 23 de out. 2024.

[16] GRANDI, João Luiz *et al*. Fatores associados à gravidade das reações transfusionais ocorridas em hospital de ensino, na cidade de São Paulo, entre 2007-2019. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 9, n. 1, p. 129-135, 2021. Disponível em: https://www.redalyc.org/journal/5705/570569570017/570569570017.pdf . Acesso em: 23 de out. 2024.

[17] INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA. O que é câncer?. Maio, 2022 Disponível em: https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer. Acesso em: 10 mar. 2024.

[18] KLAR, Natalie *et al*. Features associated with long-term survival in patients with metastatic breast cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 19, n. 4, p. 304-310, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S152682091830853X Acesso em: 30 de mar. 2024.

[19] LENKE, L.; MACIEL, N. IMPACTO DA TRANSFUSÃO DE HEMÁCIAS EM PACIENTES QUE FAZEM QUIMIOTERAPIA (BIOMEDICINA). **Repositório Institucional**, v. 1, n. 1, 21 jul. 2023. Disponível em: http://revistas.icesp.br/index.php/Real/article/view/4223. Acesso em: 21 de mar. 2024.

[20] LUCCHINI, Maria Luisa Kechichian *et al*. Notificação de reações transfusionais em hospital terciário. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, p. e292111133370-e292111133370, 2022. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/33370 . Acesso em 22 de mar. 2024.

[21] MACEDO, Emily Duarte; SILVEIRA, Vanessa Maria de Jesus; ATHAYDE, Leticia Antunes. Indice de reação transfusional em pacientes submetidos a transfusão em um hemocentro do norte de Minas Gerais. Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde, v. 2, n. 2, p. 54–59, 2016. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/236680029.pdf . Acesso em: 23 de out.2024

[22] SAITO, Mariza. Hemovigilância: Eventos transfusionais adversos antes e após implantação de um Comitê Transfusional Hospitalar. 2024. Disponível em:https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UEL_b8d3bdf7ce14932559961382e9306805. Acesso em: 23 de out. 2024.

[23] SILVA, A. B., de Oliveira, A. A., Silva, J. D. O. M., Santos, G. K. D. B. B., Esteves, R. B., & da Silva, Â. M. (2021). Caracterização epidemiológica das reações transfusionais imediatas em um hospital público de ensino. Research, Society and Development, 10(9), e5110916635-e5110916635. Disponível em:https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16635. Acesso em: 23 de out. 2024.

[24] SOUZA NETO, A. L. Dissertação de Mestrado. Análise dos incidentes transfusionais imediatos notificados ao Hemocentro Regional de Uberlândia. Uberaba, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), p.79, 2010. Disponível em: https://bdtd.uftm.edu.br/handle/tede/145 . Acesso em: 23 de out. 2024.

[25] VIEIRA, Julia Spohr; DEXHEIMER, Geórgia Muccillo. Análise dos resultados dos testes pré-transfusionais e das reações pós-transfusionais de pacientes leucêmicos em um banco de sangue. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 14, n. 3, 2022.Disponível em:https://www.univates.br/revistas/index.php/destaques/article/view/3127. Acesso em: 23 de out. 2024.

Capítulo 7

Escamas da tilápia: uma fonte sustentável de ácido hialurônico

Leticia Possamai
Silvano Piovan

Resumo: No Brasil, a produção de tilápia (*Oreochromis niloticus*) tem crescido significativamente, com o Paraná se destacando como um dos maiores produtores nacionais devido às suas condições climáticas favoráveis e investimentos tecnológicos. Esse aumento na produção gera preocupações ambientais quanto ao manejo e descarte de resíduos, como restos de ração e subprodutos da filetagem, que podem contaminar a água e prejudicar ecossistemas aquáticos. Este trabalho aborda essas questões ao investigar a viabilidade de utilizar escamas de tilápia, um subproduto frequentemente desperdiçado, como fonte para a extração de ácido hialurônico (AH). O AH, um glicosaminoglicano com ampla aplicação biomédica e cosmética, é valorizado por suas propriedades hidratantes, viscoelásticas e de retenção de água. Atualmente, sua produção ocorre principalmente via fermentação bacteriana, mas a busca por métodos mais sustentáveis é crescente. A metodologia inclui a extração e purificação de glicosaminoglicanos (GAGs) das escamas de tilápia, seguida da análise de sua composição e atividade antioxidante.

Palavras-chave: Biotecnologia; *Oreochromis niloticus*; Glicosaminoglicanos; Extração.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de tilápia (*Oreochromis niloticus*) tem crescido significativamente, posicionando o país como um dos maiores produtores mundiais dessa espécie. No estado do Paraná, em particular, as condições climáticas favoráveis, os recursos hídricos abundantes e o investimento em tecnologia têm impulsionado o desenvolvimento da piscicultura, incluindo a produção de tilápia (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2021).

A produção em larga escala de tilápia levanta questões sobre o manejo e descarte dos resíduos, como restos de ração, fezes e subprodutos da filetagem. A preocupação reside na possibilidade de contaminação da água e danos aos ecossistemas aquáticos. (Decker *et al.,* 2016) destacam os impactos ambientais significativos dos resíduos de pescado, ressaltando a necessidade de práticas sustentáveis para mitigar esses problemas.

Um dos subprodutos frequentemente subestimado na indústria pesqueira é a escama do peixe, que consiste em estruturas ósseas ou córneas que revestem sua pele e proporcionam proteção e aerodinâmica (Cortês, 2014).

Entre as possibilidades de aproveitamento dos resíduos da filetagem da Tilápia do Nilo encontra-se a extração de glicosaminoglicanos (GAGs) (Borsig *et al*., 2007). Segundo Nakano *et al*. (2010) os GAG's mais comuns são ácido hialurônico (AH), sulfato de heparana (SH) sulfato de condroitina (SC), sulfato de queratana (SQ), sulfato de dermatana (SD) e heparina (HE).

De acordo com Medeiros *et al.* (2000), os GAGs são polissacarídeos encontrados em todo o reino animal, destacando sua ampla distribuição e importância biológica. Esses compostos desempenham papéis cruciais em processos fisiológicos, como coagulação sanguínea, manutenção da matriz extracelular e modulação da interação celular.

Ao aproveitar essas escamas para a obtenção de GAGs, contribui-se para a redução do desperdício e para a valorização dos recursos naturais, alinhando-se com princípios de economia circular e sustentabilidade ambiental, além de abrir portas para a inovação e o avanço científico (Feltes, 2010).

O ácido hialurônico (AH) é um GAG não sulfatado composto por unidades de dissacarídeos repetitivas de ácido glucurônico e N-acetilglucosamina (Varki *et al*., 2015). O AH possui propriedades como lubrificação, viscoelasticidade e capacidade de retenção de água, proporcionando hidratação e elasticidade à pele e às articulações (Vázquez *et al*., 2010).

O AH apresenta um vasto potencial de aplicação em diversas áreas, tanto na indústria cosmética quanto na medicina. Quando utilizado de forma apropriada e indicada, o AH pode proporcionar uma variedade de benefícios para a saúde e a autoestima do paciente (Rodrigues, 2021).

De acordo com Ogrodowski (2006), atualmente a abordagem predominante para a produção de AH é por meio da fermentação bacteriana por cepas de Streptococcus. As bactérias são capazes de gerar AH, visto que é um componente capsular, sendo este isolado e purificado a partir da cultura.

Em um estudo realizado por Machado *et al.* (2023) a extração de GAGs para a identificação do AH foi feita a partir da membrana da casca de ovo, enquanto Rosa *et al.* (2008) verificou a atividade antioxidante do AH extraído da crista de frango.

A extração e purificação do AH através das escamas de tilápia demanda o emprego de técnicas sofisticadas de biotecnologia e processamento. Esse desafio abre portas para a exploração de novas metodologias e tecnologias, promovendo avanços significativos nesse campo. Considerando a significativa produção de pescados no Paraná e no Brasil e o impacto ambiental dos resíduos dessa produção, este estudo busca extrair e caracterizar os GAGs presentes nas escamas da tilápia, com o objetivo de viabilizar a produção de AH a partir desse material.

2. METODOLOGIA

2.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo analítico experimental para extração de GAGs e AH a partir de escamas de tilápia. As tilápias foram compradas em um pesqueiro localizado em Cascavel-PR (Big Peixe), onde foi realizada a descamação. A partir de 3 kg de tilápia, foram obtidos 82 g de subproduto, que foi lavado em água corrente e transportado ao Laboratório da Univel (Universidade de Cascavel).

2.2. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

2.2.1. EXTRAÇÃO DOS GLICOSAMINOGLICANOS

As escamas foram descongeladas sob refrigeração e desengorduradas com 10ml de acetona (PA). Em seguida, parte da amostra (15g) foi submetida à proteólise mediante a ação da enzima papaína (10 g) e 900ml de tampão fosfato – cisteína 0,865g em pH 6,8 (Cardoso *et al.* 1992), na temperatura de 60 ºC. Utilizando 10g de enzima, 15 de escamas e 900ml de tampão fosfato – cisteína 0,05M, pH 6,8. Após 36 ou 48 h de digestão as escamas foram submetidas a uma etapa de trituração, em mixer. O processo de hidrólise teve sequência a 60ºC, sob condições controladas de temperatura, com duração total de 14 dias.

Após a hidrólise enzimática, as proteínas foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA 5% em água destilada) – (4,5ml), por 20 min em banho de gelo. Em seguida separado o sobrenadante. Ao sobrenadante, foi adicionado 3:1 volumes de etanol e mantido em repouso por 24 horas a uma temperatura de -20ºC (900ml de etanol: 300ml da amostra). Na sequência, o precipitado, separado e armazenado na estufa a 60°C por 24h para obter o extrato bruto de 8,003g de GAGs. Foram obtidos dois extratos brutos, sendo o primeiro (EXT 1) passando por um período de digestão de 36h e o segundo (EXT 2), por 48h.

2.2.2. ANÁLISE DO RENDIMENTO BRUTO POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

O extrato bruto contendo GAGs foi fracionado utilizando cromatografia de troca iônica em coluna clássica (3,5 cm x 20 cm) empacotada com resina DEAE *Sepharose Fast Flow* estabilizada previamente com tampão acetato (50 mM) em pH 5,0 (Souza-Junior, 2014). Uma alíquota de cada extrato bruto (15 mg) foi solubilizada em 10 mL água destilada e aplicada na coluna. A coluna foi eluída em Stepwise com solução tampão acetato (50 mM em pH 5,0), acrescida de diferentes concentrações de NaCl como fases móveis (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0).

2.2.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTAÇÃO DO RADICAL DPPH (2,2 - DIFENIL 1-PICRILHIDRAZIL)

A atividade antioxidante foi determinada pela redução do radical estável DPPH (2,2 - difenil 1- picrilhidrazil) e pelos antioxidantes presentes em dois extratos, utilizando-se concentrações finais de 0,1 a 1 mg/mL em solução aquosa. Em um tubo de ensaio, foi adicionado um volume de 2,5mL da amostra e em seguida adicionado 1,0mL de solução de DPPH 0,3mM em etanol. Após 30 minutos, foram realizadas as leituras das amostras em absorbância de 518nm. A solução de DPPH (1,0mL; 0,3mM) mais etanol (2,5mL) foi usada como controle (KNATT *et al*., 2008). A atividade antioxidante foi calculada com o auxílio da fórmula (1). % sequestro de radicais livres = 100 - [(AA – AC) / AC] x 100 Onde: AA = absorbância da amostra AC = absorbância do controle. O controle foi conduzido da mesma maneira, exceto que água destilada foi usada em vez de amostra. BHA (2-terc-butil-4-hidroxianisol e) foi usado como controle positivo.

2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a quantificação das escamas utilizadas, o peso seco após a desengorduração, o peso do extrato bruto de GAGs e o rendimento foram apresentados em porcentagem de GAGs extraídos. Os dados foram apresentados como média, mediana, desvio padrão e intervalo de confiança do rendimento em porcentagem de GAGs extraídos. Na atividade antioxidante, foram calculados a média, desvio padrão e intervalo de confiança para as diferentes concentrações testadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. RENDIMENTO DE GAGS BRUTOS

O rendimento foi calculado considerando o extrato bruto, conforme:

RB (%) = PSE/PSA *100(1)

RB (%) = 8,003g/15g *100

RB (%) = 53,35%

RB: rendimento bruto (%); PSE: peso seco extrato bruto (g); PSA: peso seco da amostra (g).

A extração dos GAGs foi realizada por meio de um processo de hidrólise de 14 dias, devido à alta resistência do material, que possui uma composição densa e de difícil degradação. Esse processo foi conduzido em estufa a uma temperatura de 60°C, resultando em um rendimento bruto de 53,35%.

Em um estudo realizado por Lima (2023), a extração de GAGs da brânquia de tilápia do Nilo apresentou um rendimento de 0,1%. Nogueira (2019), utilizando o extrato bruto das vísceras de pacu, obteve um rendimento de 0,18% e, nas vísceras de tilápia, 0,15%. O rendimento bruto é variável devido a fatores como a metodologia de extração, condições climáticas, fatores fisiológicos e tipos de subprodutos.

3.2. PURIFICAÇÃO DOS GLICOSAMINOGLICANOS POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

Tabela 1. Composição química dos extratos brutos obtidos de escamas de Tilápia.

	Extrato 1	Extrato 2
Áçucares totais (%)*	56,4 ± 0,2#	42,1 ± 0,1
Ácido urônico (%)*	12,5 ± 0,3#	7,2 ± 0,4
Proteínas totais (%)*	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,2
Grupos sulfatados (%)*	7,2 ± 0,4	8,6 ± 0,3
Rendimento (%)*	2,5 ± 0,5#	1,8 ± 0,3
Monossacarídeos (mol %)		
Raminose	9,1	8,3
Xilose	10,3	9,6
Manose	9,3	10,5
Ácido glicurônico	45,6#	33,7
Ácido galacturônico	36,6	39,1

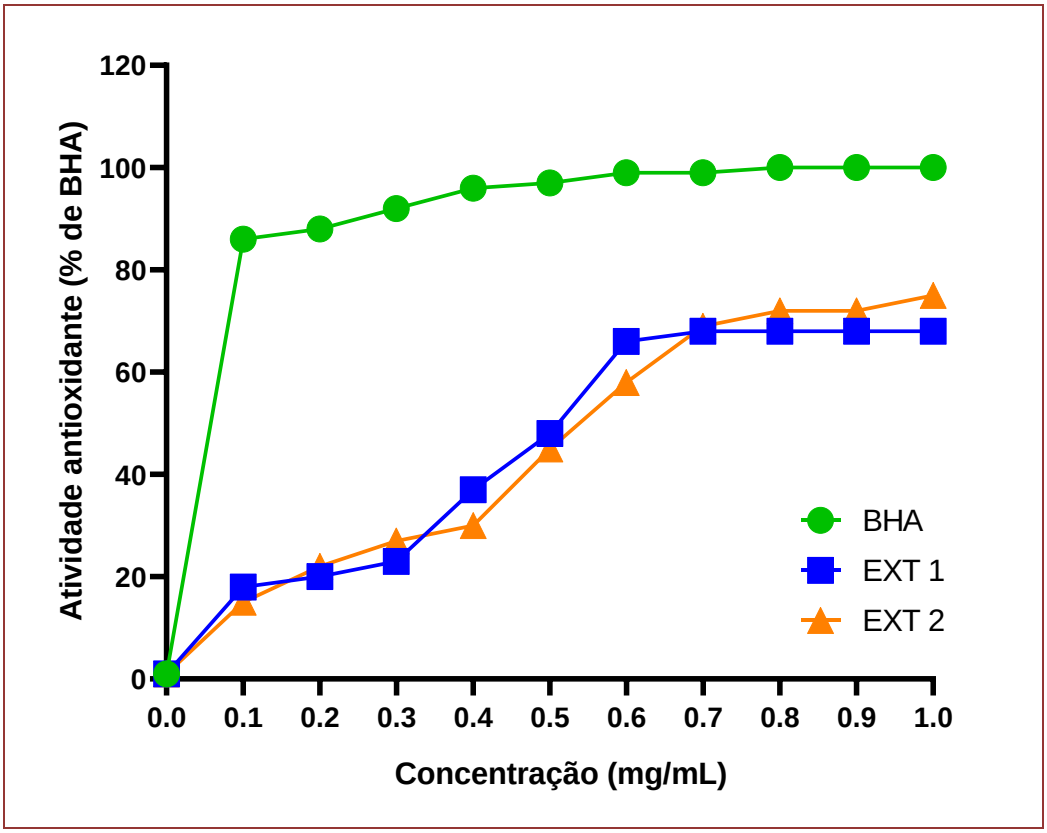
indica diferenças significativas (p , 0,05). * (% do peso seco).

A Tabela 1 apresenta a composição química de dois extratos obtidos das escamas de Tilápia, focando em açúcares totais, ácidos urônicos, proteínas totais, e grupos sulfatados, além do rendimento dos extratos. O Extrato 1 mostrou uma maior quantidade de açúcares totais (56,4%) em comparação com o Extrato 2 (42,1%), enquanto o Extrato 1 também teve maiores porcentagens de ácido urônico (12,5%) e rendimento (2,5%) em relação ao Extrato 2. Por outro lado, o Extrato 2 apresentou uma maior concentração de proteínas totais e grupos sulfatados. Quanto à composição de monossacarídeos, observou-se que ambos os extratos contêm raminose, xilose, manose, ácido glicurônico e ácido galacturônico, com variações nas proporções desses açúcares entre os extratos, onde o Extrato 1 apresentou maior concentração de ácido glicurônico (45,6 mol %).

3.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH

As atividades de eliminação de radicais DPPH dos extratos 1 e 2, bem como do BHA, são apresentadas na Figura 2. Os extratos 1 e 2 foram capazes de eliminar o radical DPPH de forma dependente da dose. Ambos exibiram atividade antioxidante com seu máximo atingido a 0,8 mg/mL (68 %) e 1 mg/mL (75 %), respectivamente.

Figura 2. Atividade antioxidante dos extratos brutos de escamas de tilápia, pelo método DPPH, comparando com BHA.



Os resultados sugerem que os extratos das escamas de Tilápia possuem potencial antioxidante, possivelmente devido à presença de compostos sulfatados e ácidos urônicos, componentes conhecidos por suas propriedades bioativas. O maior conteúdo de açúcares e rendimento no Extrato 1 pode indicar um perfil mais eficiente para atividades antioxidantes em comparação ao Extrato 2, o que é corroborado pela concentração mais baixa necessária para alcançar a máxima atividade antioxidante. Esses dados indicam que extratos de escamas de Tilápia podem ser explorados como fontes alternativas de antioxidantes naturais, com potencial aplicação em indústrias alimentícias e farmacêuticas.

4. CONCLUSÃO

O aproveitamento das escamas da tilápia mostra-se viável devido ao grande número de abates diários e ao rendimento em AH. A metodologia aplicada para a identificação do AH presente nos GAGs extraídos das escamas de tilápia apresentou resultados positivos. Esses resultados indicam o potencial de produzir um subproduto de alto valor agregado, utilizando técnicas simples e de baixo custo, a partir de um material de descarte. Contudo, se fazem necessárias outras análises e abordagens para explorar o material obtido em sua totalidade, como o método de carbazol, massa molar do AH extraído potenciais aplicações na cosmetologia, entre outros.

REFERÊNCIAS

[1] BORSIG, L. et al. Selectin Blocking Activity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate Glycosaminoglycan from Sea Cucumber. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 20, p. 14984–14991, maio 2007.

[2] CARDOSO, L.E.; ERLICH, R. B.; RUDGE, M. C.; PECAROLI, J. C.; MOURÃO, P. A. A comparative analysis of glycosaminoglycans from human umbilical arteries in normal subjects and in pathological conditions affective pregnancy. Laboratory Investigation, **New York**, v.67, n.5, p.588-595, 1992.

[3] CORTES, G. K. DA R. **Membranas à base de escama de peixe/quitosana : preparação, caracterização e estudos de interação/liberação de tetraciclina e doxociclina**. Tese, Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, Sergipe. 4 abr. 2014.

[4] DECKER, A. T. et al. Impactos ambientais dos resíduos de pescado. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 2, n. 1, p. 1–10, 4 jul. 2016.

[5] FELTES, M. M. C. et al. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 669–677, 2010.

[6] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2020.** Rio de Janeiro: IBGE, 2021.

[7] LIMA, Antônio Carlos Nunes de. **Glicosaminoglicanos sulfatados da brânquia de tilápia do Nilo** (Oreochromis niloticus Linnaeus 1758). 2023.

[8] MACHADO, R. S. S. et al. **Extração de glicosaminolicanos para identificação do ácido hialurônico na membrana da casca de ovo.** Monografia, Curso Técnico em Química – ETEC Irmã Agostina. São Paulo, São Paulo. 6 dez. 2023.

[9] MEDEIROS, G. F. et al. Distribution of sulfated glycosaminoglycans in the animal kingdom: widespread occurrence of heparin-like compounds in invertebrates. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1475, n. 3, p. 287–294, 26 jul. 2000.

[10] NAKANO, T.; BETTI, M.; PIETRASIK, Z. Extraction, Isolation and Analysis of Chondroitin Sulfate Glycosaminoglycans. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 61–74, 1 jan. 2010.

[11] NOGUEIRA, A. V. et al. Viscera of fishes as raw material for extraction of glycosaminoclycans of pharmacological interest. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 239-248, 2019.

[12] OGRODOWSKI, C. S.. Produção de acido hialuronico por Streptococcus: estudo da fermentação e caracterização do produto. **Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP**, 2006.

[13] RODRIGUES, M. F. J. et al. Uso da toxina botulinica e do ácido hialurônico na Odontologia: revisão de literatura / Use of botulinum toxin and hyaluronic acid in Dentistry: literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 88505–88516, 10 set. 2021.

[14] VARKI, A. et al. (EDS.). **Essentials of Glycobiology**. 3rd. ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015.

[15] VÁZQUEZ, J. A. et al. Hyaluronic acid production by Streptococcus zooepidemicus in marine by-products media from mussel processing wastewaters and tuna peptone viscera. **Microbial Cell Factories**, v. 9, n. 1, p. 46, 14 jun. 2010.

Capítulo 8

A importância da análise microbiológica em polpas de laranjas comercializadas em municípios

Eduarda Zanin Lasta
Silvano Piovan

Resumo: A microbiologia é conhecida por estudar os microrganismos, como: bactérias, fungos, algas e alguns protozoários, sendo assim, muitos deles podem conviver pacificamente todos os dias em nossa microbiota normal, mas em casos de se realocarem em um local que não são de costume, podem acabar gerando patologias. Esses seres microscópicos podem ser ingeridos principalmente pela alimentação ou ingestão de líquidos contaminados, como as polpas de laranja, normalmente comercializadas em feiras, sendo de fácil acesso pela população, consequentemente com a alta demanda de pedidos, podem acontecer erros de preparação desses sucos, como a falta de higienização dos materiais utilizados no preparo como também no armazenamento dessas polpas, gerando facilmente o crescimento de bactérias como *Escherichia Coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella sp, Shigella sp*., etc. Consequentemente essas espécies acarretaram a saúde dos indivíduos, podendo gerar desde patologias simples como intoxicação alimentar ou até mesmo patologias graves como a pneumonia e meningite, sendo assim, vale ressaltar a importância dos cuidados higiênicos na preparação dos alimentos, principalmente quando se trata de preparar esse grupo alimentício ou os líquidos adquiridos nas feiras, e também os produtores ou responsáveis pela preparação ou dono do local, devem sempre seguir as normas estabelecidas pela Vigilância Sanitária, já que eles visam o cuidado com a população.

Palavras-chaves: Biomedicina; Microbiologia; Feiras; Saúde; Laranjas.

1. INTRODUÇÃO

A microbiologia pode ser definida como o estudo de seres vivos eucariotos e procariotos, já que em seu próprio nome mostra o quão vasto é área destas analises e estudos, sendo Mikos = pequenos + Bio = vida + logos = ciência, envolvendo assim os seres vivos unicelulares e pluricelulares, como: bactérias, fungos, algas e protozoários. A história desse estudo teve início com dois pesquisadores, Robert Koch e Antony Van Leeuwenhoek que juntos desenvolveram o primeiro microscópio onde foi possível observar pela primeira vez os microrganismos, mas quem acabou sendo considerado o ¨paiï da microbiologia foi Leeuwenhoek por ter descoberto mundo das bactérias, embora o responsável por descrever as primeiras morfologias fúngicas tenha sido Koch (Cândido *et al*., 2010).

Em 1674, o microbiologista Leeuwenhoek observou pela primeira vez em seu microscópio amostras de solo, rio, saliva e fezes, onde foi possível observar esses seres minúsculos, assim naquela época surgiram duas teorias entre os pesquisadores: abiogênese (geração espontânea) e biogênese. A segunda teoria era muito defendida por Louis Pasteur, outro pesquisador que naquele tempo conseguiu comprovar com seus estudos a impossibilidade da primeira teoria (Dias, 2010).

Pasteur foi um dos responsáveis que assim como Leeuwenhoek contribuiu muito com o desenvolvimento da microbiologia, descobrindo em um dos seus primeiros testes o processo de fermentação da cerveja, mas, a população ainda consistia com suas dúvidas de como esses seres microscópicos podiam gerar as doenças, sendo assim, em 1860, o médico Joseph Lister, que acreditava e acompanhava Pasteur, obteve uma teoria de que esses patógenos eram adquiridos através do ar e assim criou-se o método da desinfecção durante os procedimentos operatórios da época, onde consequentemente obteve sucesso. Com o decorrer do tempo, Koch, o pesquisador citado no início da história, criou o que conhecemos como seus postulados, relacionando diretamente as bactérias descobertas por Antony com as doenças daquela época (Dias, 2016; Neufeld, 2021).

Contudo, para que essas descobertas ficassem ainda mais completas, o bacteriologista Alexander Fleming, percebeu que o ácido utilizado na descoberta de Lister, afetavam muito mais os leucócitos em vez dos micróbios, portanto, Fleming cultivou vários tipos desses microrganismos a fim de testar métodos antissépticos, até que em 1928, em uma das suas pesquisas, em um cultivo havia crescido um fungo e que em volta deste não cresceu a bactéria, o bacteriologista decidiu focar sua pesquisa neste ser que mais tarde foi nomeado como Penicilium e também relatou que ele produzia uma substância capaz de inibir crescimento microbiano e por este motivo e descoberta surgiu a Penicilina (Dias, 2016; Pereira *et al*., 2005).

2. A MICROBIOLOGIA NA SOCIEDADE

Com a evolução da vida no planeta Terra, além das mudanças morfológicas, habitáveis e da vida dos seres humanos, obtivemos também o desenvolvimento e a adaptação de seres microscópicos. Hoje em dia, muitas dessas bactérias são necessárias para a biodiversidade, equilíbrio orgânico e químico do ambiente em que vivemos, além de apresentarem características que estão presentes na manipulação genética e organização estrutural dos seres vivos (Paraná, 2008; Madigan *et al*., 2016).

Esses microrganismos estão presentes em diversos locais que normalmente fazem parte do nosso cotidiano, como: o ar, a água, solo, superfícies que tocamos e até mesmo

fixados em nossa pele, mas também fazem parte de um sistema muito importante para os seres humanos, chamado de microbiota normal, ou seja, nosso organismo convive diariamente e na maioria das vezes pacificamente com várias espécies bacterianas, sendo habitado principalmente no Trato Gastrintestinal e sendo distribuído de forma heterogênica por esses órgãos. Portanto, no estômago e no intestino delgado essa concentração se torna reduzida devido ao pH ácido, ao suco gástrico e ao peristaltismo exclusivamente do intestino delgado. Já na região denominada como Cólon esse peristaltismo se torna lento e apresenta nutrientes favoráveis para o desenvolvimento de bactérias que compõe a microbiota (Tortora, 2017; Madigan, 2016; Pampolini *et al*., 2011).

Porém, quando relacionado com a saúde humana, temos os benefícios como: defesa contra possíveis patógenos, metabolismo, nutrição, fisiologia e imunidade, tudo isso sendo adquirido desde o parto e amamentação materna quando nascemos. Já os malefícios, através de mal hábitos dos indivíduos, como: não lavar alimentos adequadamente, ingerir bebidas de locais que não sabem a procedência da qualidade e umas das mais comuns, não higienizar as mãos antes de ingerir qualquer alimento, muitas vezes podem levar o paciente à obter patologias graves ou sintomas persistentes, pois a bactéria presente no alimento ou objeto tocado pode ser patológica e mesmo com o decorrer das novas criações de medicamentos e principalmente de antibióticos, esses seres minúsculos evoluem a cada contato com esses agentes, se tornando resistentes (Paula, 2012; Riverón *et al*., 2018; Paixão *et al*., 2016).

3. A MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

A categoria de analises de alimentos surgiu pela necessidade da descoberta e conhecimento do contato desses seres com o grupo alimentício e como eles interagem caso entrem em contato com o organismo humano, portanto, hoje em dia sabe-se as espécies, as morfologias, os biotipos e sorotipos das bactérias envolvidas no processo de decomposição dos alimentos e as possíveis intoxicações alimentares (Siqueira, 1995).

Desse modo, o microbiologista ou profissional responsável deve observar a relação desses seres com os produtos comestíveis, desde sua multiplicação até a formação de maneiras de prevenção como os medicamentos, enquanto em relação a saúde pública, é necessário que o profissional conheça o potencial especifico do microrganismo para que o alimento não seja perigoso em alto nível e também os sintomas das intoxicações provocadas caso essa bactéria seja ingerida, bem como seu controle (Siqueira, 1995).

No Brasil, é bem comum nos eventos municipais a presença de feiras, geralmente vendendo alimentos de rápido acesso (pasteis e lanches), mas os mais comuns são os sucos naturais de laranja, onde na maioria das vezes com a alta demanda de pedidos acabam não sendo preparados da maneira correta, ou seja, acabam pecando no quesito de higiene dos materiais utilizados e no armazenamento da polpa da laranja, podendo consequentemente abrigar e desenvolver o crescimento bacteriano, gerando uma intoxicação alimentar ou uma patologia mais grave em pessoas que ingerirem o suco, mas também pode estar relacionado ao nosso país, pois não apresentar um padrão de qualidade relacionado a esses líquidos ingeridos, gerando falta de conhecimento na população (Nascimento *et al*., 1981).

Na grande maioria de patologias geradas através da ingestão desses sucos, o microrganismo apresenta um alto nível de virulência, podendo gerar sintomas e doenças

como: mal estar, vômitos, diarreia, desidratação, intoxicação alimentar, infecção do trato urinário e intestinal (Santos et al., 2016).

4. AS BACTÉRIAS ENCONTRADAS EM ALIMENTOS

Uma das bactérias mais encontradas em alimentos é a *Escherichia coli*, por ser considerada um microrganismo simbiótico, ou seja, ela convive diariamente presente em nosso organismo de forma pacifica, mas em casos onde o individuo apresente um estado nutricional baixo ou até mesmo uma imunidade abaixo do normal, esse ser acaba se tornando maléfico para o organismo humano. Por conta da E.coli ser um simbionete e apresentar uma grande variedade de hospedeiros acabam existindo uma enorme linhagem desse microrganismo com características distantes, podendo assim gerar patologias diferentes. No caso das infecções intestinais são causadas principalmente pelas linhagens que apresentam seu fator de virulência no plasmídeo, essas alterações ou evolução bacteriana se da como forma de sobrevivência, ou seja, muito dessas variações são comensais, mas acabam se tornando patogênicas, onde para sua multiplicação acabam obtendo uma aquisição cromossomal (Pinto *et al.,* 2011).

Outra bactéria que pode possivelmente ser encontrada é o *Staphylococcus aureus*, por estar presente também em nossa microbiota normal, ele pode gerar espinhas ou pequenos furúnculos nos seres humanos, ou em sua forma virulenta, pode gerar desde uma pneumonia até uma meningite. Por ter uma ampla distribuição, essa bactéria pode resistir ao frio, podendo ficar viável por vários anos partículas de poeiras e também no ser humano, já que se torna seu principal reservatório, se alojando nas fossas nasais e garanta. O *S. aureus* se encontra mais virulento em casos onde o paciente já realiza uma rotina hospitalar, como: dialise, queimados, diabéticos, feridas abertas e principalmente em infecções cirúrgicas, ou seja, tudo vai depender da rotina, saúde e imunidade do paciente (Santos *et al*., 2007).

Algumas outras espécies podem ser ainda mais perigosas e prejudiciais, já que são normalmente encontradas em alimentos hospitalares, dentre elas podemos citar: *Klebsiella sp., Shigella sp., Salmonella sp., Pseudomonas aeruginosa e Citrobacter* freudii, essas são consideradas as mais graves por conter um alto mecanismo de multiplicação e resistência aos antibióticos, além de se aproveitarem de pacientes imunocomprometidos por serem bactérias oportunistas ou se alojarem em lugares que não são os de costumes (Cardoso *et al*., 2004; Dias *et al*., 1985).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, a partir dos relatos acima, pode-se concluir que a higienização dos alimentos e dos materiais para a preparação dos mesmos é de suma importância, já que se sabe que a partir da ingestão dessas polpas o indivíduo pode adquirir cepas bacterianas de alta virulência, consequentemente podendo acarretar em patologias graves e ainda por conta de sua resistência a maioria dessas bactérias se tornam resistentes aos antibióticos já desenvolvidos pelo ser humano. Assim, espera-se que os ambientes que realizam essas atividades de preparação e vendas de polpas de laranja, se submetam as normas da vigilância sanitária e se conscientizem sobre os devidos cuidados com os alimentos, podendo oferecer ao consumidor o melhor de seu trabalho sem que ele corra algum risco de saúde.

REFERÊNCIAS

[1] ANDRÉ, Carmen Diva Saldiva De et al. **Revisão: Aspectos básicos da microbiologia. Campinas**: Brazilian journal of food tecnology, 2000. 41-51 p. v. 3.

[2] CARDOSO, Rodrigo Rezende *et al*. Detecção de Listeria, Salmonella e Klebsiella em serviço de alimentação hospitalar. **Revista de nutrição**, 2004. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rn/a/zfRVwfy3QbxdDpGXXs99n5t/?lang=pt#. Acesso em: 23 maio 2024.

[3] CAVALCANTI, S.*et al*. **Prevalence of Staphylococcus aureus introduced into intensive care units of a university hospital**. Braz J Infect Dis, v. 9, n. 1, p. 5663, 2005.

[4] DA SILVA DIAS, Ingrid. A história do surgimento da microbiologia: Fatores marcantes. **UFRJ**, 2016. Disponível em: https://www.microbiologia.ufrj.br/a-historia-do-surgimento-da-microbiologia-fatos-marcantes/#:~:text=A%20Microbiologia%20como%20conhecemos%20nos,ele%20nomeou%20como%20%E2%80%9Canim%C3%A1lculos%E2%80%9D. Acesso em: 24 maio 2024.

[5] DE PAULA, Talles Prosperi. **Bactérias intestinais e manutenção do sistema imune**. 14. Interação - Revista de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2019. 135 p. v. 14. Disponível em: https://ojs.periodicos.unis.edu.br/index.php/interacao/article/view/52. Acessado em: 26 de maio de 2024.

[6] DIAS, José Cavalcante De Albuquerque Ribeiro *et al*. Bactérias gram negativas resistentes a antimicrobianos em alimentos**. Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, 1985. Disponível em: https://www.scielo.br/j/mioc/a/MtrZCjRbVKsz7KVpCyxwchS/?lang=pt&format=html#. Acesso em: 24 maio 2024.

[7] DO NASCIMENTO, Dirceu *et al*. Determinação quantitativa de grupos de bactérias em sucos de laranja ao natural. **Revista saúde pública,** 1981. Disponível em: https://www.scielosp.org/pdf/rsp/1981.v15n2/221-235/pt. Acesso em: 28 maio 2024.

[8] DOS SANTOS, Bárbara Araújo et al. **Análise microbiológica de polpas de açaí comercializadas na cidade de São Paulo**. RBAC, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Flavia-Gehrke/publication/305700026_Analise_microbiologica_de_polpas_de_acai_comercializadas_na_cidade_de_Sao_Paulo_Microbiological_analysis_of_the_acai_berry_products_marketed_in_the_city_of_Sao_Paulo/links/579a44e608ae024e100e4172/Analise-microbiologica-de-polpas-de-acai-comercializadas-na-cidade-de-Sao-Paulo-Microbiological-analysis-of-the-acai-berry-products-marketed-in-the-city-of-Sao-Paulo.pdf. Acesso em: 23 maio. 2024.

[9] FEIJÓ, Ricardo Becker *et al*. Imunizações: três séculos de uma história de sucessos e constante desafios. **Jornal de pediatria**, 2006. Disponível em: https://www.scielo.br/j/jped/a/ZjQy9DgV5tmcLqxk3YsS5Vf/?lang=pt#. Acesso em: 26 maio 2024.

[10] J. FORSYTHE, Stephen. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2.Artmed, 2013.

[11] LARRY BENCHIMOL, Jaime. **A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil**. ABRASCO - Associação Brasileira de Saúde Coletiva, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/j/csc/a/7LkwjLPmcPJVBvrXVcBWLGP/#. Acesso em: 24 maio 2024

[12] LEONOR PEREIRA, Ana *et al.* **Alenxander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1982) ao prêmio Nobel (1945).** 3. ed. Porto: História, 2005. 129-151 p. v. 6.

[13] MACCONKEY, A.T. 1900. **Note on a new medium for the growth and differentiation of the Bacillus coli communis and the Bacillus typhi abdominalis**. The Lancet, Part II:20.

[14] MADIGAN, Michel *et al.* **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice Hall, 2016.

[15] NEUFELD, Murilo Paulo *et al*. Personagem da história da saúde XI: Joseph Lister. **Revista brasileira de análises clínicas**, 2021. Disponível em: https://www.rbac.org.br/artigos/volume-53-no-1-editorial/. Acesso em: 27 maio 2024.

[16] NOBRE, Natália Venturinelli . **Instruções de uso: meio de cultura - Ágar MacConkey**. AdvaGen, 2022. Disponível em: https://advagen.com.br/wp-content/uploads/2024/02/ADVAGEN_IU_-gar-MacConkey_Rev.01-2.pdf. Acesso em: 27 maio 2024.

[17] PAIXÃO, L. A; CASTRO, F. F. S. **A colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro.** Universitas: Ciências da Saúde, Brasília, v. 14, n. 1, p. 85-96, jan./jun. 2016.

Disponível em:https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/cienciasaude/article/viewFile/3629/3073.Acesso em: 26 mai. 2024

[18] PAMPOLINI, Flávia. Microbiota normal intestinal: efeitos fisiológicos e ação imunomoduladora. **Revista multidisciplinar da saúde**, 2011. Acesso em: 23 maio 2024.

[19] PARANÁ. Secretaria de Estado da Educação. **Diretrizes curriculares da rede pública de educação básica do Estado do Paraná: Biologia**. Curitiba: SEED, 2008.

[20] PEREIRA, Lucas De Oliveira *et a*l. **Microbiologia no cotidiano: práticas experimentais no ensino público**. Revista ELO- Diálogos em extensão, 2023. v. 12.

[21] PESSOA, Gil Vital Álvares *et al*. Meio de Rugai e Lisina - Motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 1972. 97-100 p.

[22] PINTO MEDEIROS, Leonardo *et al*. **Reconhecendo a microbiologia no nosso dia a dia pelo método PBL por estudantes do ensino médio**. 1. ed. Local: Luminária, 2017. v. 19.

[23] PINTO, Fábio De Assis *et al*. Interações simbióticas entre Escherichia coli e seres humanos: a instabilidade de uma relação. **Revista HCPA**, 2011. Disponível em: https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/22399/14960. Acesso em: 22 maio 2024.

[24] POETINI, Felipe Bastos. Meios de cultura alternativos as práticas para o ensino de microbiologia. **Unipampa - Universidade Ferderal do Pampa**, 2016. Disponível em: https://dspace.unipampa.edu.br/bitstream/riu/1706/1/Filipe-Bastos-Poetini.pdf. Acesso em: 25 maio 2024.

[25] RIVERÓN, Fernando Fernandéz *et al*. **Resistência bacteriana**. 1. ed. Cidade de Havana: Revista cubana de medicina militar, 2003. v. 8. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=s0138-65572003000100007&script=sci_arttext

[26] RODRIGUES, Clara Dayana *et al.* Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa em água de estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos no município de São Luís-MA. **Universidade estadual do Maranhão**, 2017. Disponível em: https://repositorio.uema.br/handle/123456789/838. Acesso em: 23 maio 2024.

[27] RUGAI, E. *et al*. Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 28: 79-83, 1968.

[28] SANTOS, André Luis Dos *et al*. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. Jornal brasileiro de patologia médica laboratorial**, 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/j/jbpml/a/gHvPXyhgbzWt69YKxGqPFHk/#. Acesso em: 23 maio 2024.

[29] SEJAS, Lilian M. *et al*. **Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão comercialmente no Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial, 2003. 27-35 p. v. 39.

[30] SILVA DE SIQUEIRA, Regina *et al*. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. ISBN 85-85007-09-5.

[31] TORTORA, Gerard *et al*. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

www.poisson.com.br
contato@poisson.com.br

@editorapoisson

https://www.facebook.com/editorapoisson